



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL
ELABORADO A BASE DE LOS EXTRACTOS DE GUARANGO
(*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus
vulgaris*) EN RATONES (*Mus musculus*)”**

TESIS DE GRADO

Previo a la Obtención del Título de

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR

CHARCO YAUROPOMA JHONY FREDY

RIOBAMBA – ECUADOR

2015



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL
ELABORADO A BASE DE LOS EXTRACTOS DE GUARANGO
(*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus
vulgaris*) EN RATONES (*Mus musculus*)”**

TESIS DE GRADO
Previo a la Obtención del Título de
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: CHARCO YAUROPOMA JHONY FREDY
TUTOR: BQF. GERMÁN TOAPANTA

RIOBAMBA – ECUADOR
2015

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO A BASE DE LOS EXTRACTOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*) EN RATONES (*Mus musculus*)”** de responsabilidad del señor egresado Jhony Fredy Charco Yauripoma, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra.Cecilia Veloz DECANA FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dra. Ana Albuja DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
BQF. Germán Toapanta DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
BQF. Victor Guangasig MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
BQF. Cecilia Toaquisa MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Abgda. Bertha Quintanilla COORDINADOR SISBIB ESPOCH	_____	_____

NOTA DE TESIS ESCRITA _____

Yo, **Jhony Fredy Charco Yauripoma**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Jhony Fredy Charco Yauripoma

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación va dedicado en primer lugar a Dios, por darme la vida, la oportunidad de alcanzar mis metas y sueños; y quien sobre todo ha sido mi guía durante el proceso de mi carrera académica en cada paso y decisión que he tomado con sabiduría.

A mis padres Simón y Josefa, hermanos, abuelitos y tíos que con su cariño, consejos, apoyo económico y moral me han brindado las fuerzas necesarias para no decaer ante ninguna adversidad y seguir luchando en todo momento de mi vida.

A mis amigos, que más que amigos han sido una segunda familia para mí, quienes de una u otra forma siempre estuvieron a mi lado, con quienes compartí horas y momentos inolvidables y que mucho me animaron en mis momentos de cansancio. Sin ustedes no culminaría mi meta estudiantil.

Jhony Fredy Charco Yauripoma

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Bioquímica y Farmacia, porque en sus aulas y laboratorios adquirí formación profesional.

Al BQF. Germán Toapanta Director de tesis y al BQF. Victor Guangasig Colaborador, quienes con su contribución desinteresada, por dedicar su valioso tiempo y contribución de conocimiento para la culminación de esta tesis.

A mis hermanos, sobrinos, abuelitos y tíos por su apoyo incondicional y sus palabras de apoyo para seguir adelante.

A mis amigas/os, con quienes compartimos experiencias agradables durante el proceso de la carrera universitaria.

Jhony Fredy Charco Yauripoma

ÍNDICE GENERAL

	RESUMEN	
	SUMMARY	
	INTRODUCCIÓN	1
	Objetivos de la Investigación	2
	CAPÍTULO I	3
1.1	Marco Filosófico o Epistemológico de la Investigación	3
1.1.1	<i>Fitoterapia</i>	3
1.2	Antecedentes de investigación	3
1.3	Bases Teóricas	5
1.3.1	<i>Fitoterapia</i>	5
1.3.1.1	<i>Definición</i>	5
1.3.1.2	<i>Características Generales</i>	5
1.3.1.3	<i>Usos</i>	5
1.3.2	<i>Fitomedicamento</i>	6
1.3.3	<i>Terapia Tópica</i>	6
1.3.3.1	<i>Definición</i>	6
1.3.3.2	<i>Forma de presentación o forma farmacéutica</i>	6
1.3.3.3	<i>Uso Externo</i>	7
1.3.4	<i>Piel</i>	8
1.3.4.1	<i>Definición</i>	8
1.3.4.2	<i>Características</i>	9
1.3.4.3	<i>Estructura de la piel</i>	9
1.3.4.4	<i>Composición química de la piel</i>	12
1.3.5	<i>Heridas</i>	13
1.3.5.1	<i>Definición</i>	13
1.3.5.2	<i>Señales</i>	13
1.3.5.3	<i>Clasificación de las heridas</i>	13
1.3.5.4	<i>Síntomas comunes de las heridas</i>	14
1.3.6	<i>Cicatrización</i>	14
1.3.6.1	<i>Definición</i>	14
1.3.6.2	<i>Fases de la cicatrización</i>	14
1.3.6.3	<i>Factores que retardan la cicatrización</i>	15
1.3.6.4	<i>Cicatrización patológica</i>	16
1.3.7	<i>Metabolitos Secundarios que Contribuyen a la Cicatrización</i>	16

1.3.7.1	<i>Flavonoides</i>	16
1.3.7.2	<i>Taninos</i>	18
1.3.7.3	<i>Mucílagos</i>	19
1.3.8	<i>Vegetales</i>	20
1.3.8.1	<i>Guarango (Caesalpinia spinosa)</i>	20
1.3.8.2	<i>Nogal (Juglans regia)</i>	23
1.3.8.3	<i>Tomillo (Thymus vulgaris)</i>	25
1.3.9	<i>Gel</i>	28
1.3.9.1	<i>Definición</i>	28
1.3.9.2	<i>Características de un gel</i>	29
1.3.9.3	<i>Ventajas y Desventajas</i>	29
1.3.9.4	<i>Importancia</i>	29
1.3.9.5	<i>Mecanismo de formación de un gel</i>	30
1.3.9.6	<i>Clasificación de los geles</i>	31
1.3.9.7	<i>Excipientes</i>	31
	CAPITULO II	35
2.	PARTE EXPERIMENTAL	35
2.1	Lugar de investigación	35
2.2	Materiales, Equipos y Reactivos	35
2.2.1	<i>Materiales equipos y reactivos para el estudio Fitoquímico y Control de Calidad de la Droga seca y Extracto alcohólico de la Materia prima.</i>	35
2.2.2	<i>Materiales, Equipos y Reactivos para la elaboración y Control de Calidad del gel.</i>	38
2.2.3	<i>Materiales y Reactivos para comprobar la Actividad Cicatrizante.</i>	38
2.3	Técnicas y métodos	39
2.3.1	<i>Determinación de los Parámetros de Calidad de la Droga vegetal</i>	39
	<i>Parámetros de Calidad Químico-cualitativo (TAMIZAJE FITOQUÍMICO)</i>	42
2.3.3	<i>Obtención de los extractos</i>	45
2.3.4	<i>Control de Calidad de los Extractos</i>	46
2.3.5	<i>Cromatografía en capa fina</i>	49
2.3.6	<i>Determinación de los tipos de excipientes y las cantidades adecuadas de extracto para preparación del gel cicatrizante.</i>	50
2.3.8	<i>Actividad Cicatrizante</i>	53
2.3.9	<i>Esquema del Diseño Experimental</i>	55

CAPITULO III	56
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
3.1	Análisis, Interpretación y Discusión de resultados
3.1.1	<i>Control de Calidad de la Droga cruda vegetal</i>
3.1.1.1	<i>Análisis Físico–Químico</i>
3.2	Control de Calidad del Extracto fluido
3.2.1	<i>Determinación de los parámetros de calidad de los Extractos fluidos de guarango, nogal y tomillo</i>
3.2.2	<i>Determinación de los Parámetros Físicos de los Extractos fluidos de guarango, nogal y tomillo</i>
3.2.3	<i>Análisis Físico Químico Cualitativo</i>
3.3	Análisis Cromatográfico
3.3.1	<i>Análisis Cromatográfico de los flavonoides del guarango (Caesalpineae spinosa)</i>
3.3.2	<i>Análisis Cromatográfico de los flavonoides del nogal (Juglans regia)</i>
3.3.3	<i>Análisis Cromatográfico del tomillo (Thymus vulgaris)</i>
3.4.	Cuantificación de flavonoides expresados como Quercetina
3.4.	Control de Calidad del producto terminado
3.4.1	<i>Propiedades Físicas</i>
3.4.2	<i>Análisis Microbiológico</i>
3.5	Actividad Cicatrizante del gel a base de los extractos alcohólicos de guarango (Caesalpinia spinosa), nogal (Juglans regia) y tomillo (Thymus vulgaris).
3.5.1	<i>Proceso de Cicatrización</i>
3.6	Análisis Estadístico
3.7	Examen histopatológico a ratones (Mus musculus)
	CONCLUSIONES
	RECOMENDACIONES
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
	ANEXOS

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Estructura de la piel	9
Figura 2-1.	Capas de la Epidermis	10
Figura 3-1.	Flavonoides. Estructura Básica y Tipos	16
Figura 4-1.	Tanino. Ácido galico.	18
Figura 5-1.	Guarango	20
Figura 6-1.	Timol	26
Figura 7-2.	Estructura de la Trietanolamina	33
Figura 8-1.	Estructura del Metilparabeno	33
Figura 9-1.	Estructura del Propilparabeno	34
Figura 10-2.	Extracción sucesiva del material para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico	43
Figura 11-2	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico.	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1.	Clasificación científica del Guarango (<i>Caesalpineia spinosa</i>)	21
Tabla 2-1.	Clasificación Científica del Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	25
Tabla 3-2.	Técnicas del Tamizaje Fitoquímico	44
Tabla 4-2.	FORMULACIÓN DEL GEL CICATRIZANTE DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>) AL 30%.	51
Tabla 5-2.	DOSIS DE LAS FORMULACIONES DEL GEL CICATRIZANTE DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>) AL 30%.	51
Tabla 6-2.	Evaluación del proceso de cicatrización en cada grupo experimental mediante la aplicación de cada uno de los Tratamientos	55

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1-3.	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	56
Cuadro 2-3.	DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	57
Cuadro 3-3.	DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA, EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	58
Cuadro 4-3.	DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO, EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	58
Cuadro 5-3.	DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	59
Cuadro 6-3.	DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	60
Cuadro 7-3.	REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN PARA DETERMINAR GRUPOS FITOQUÍMICOS DEL EXTRACTO FLUIDO DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	62
Cuadro 8-3.	REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN PARA DETERMINAR GRUPOS FITOQUÍMICOS DEL EXTRACTO FLUIDO DE NOGAL (<i>Juglans regia</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	63
Cuadro 9-3.	REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN PARA DETERMINAR GRUPOS FITOQUÍMICOS DEL EXTRACTO FLUIDO DE TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	64
Cuadro 10-3.	Determinación de R _f de la cromatografía en capa fina del extracto fluido de guarango (<i>Caesalpineia spinosa</i>). LABORATORIO DE	66

	FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	
Cuadro 11-3.	Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto fluido de nogal (<i>Juglans regia</i>). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	68
Cuadro 12-3.	Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto fluido de tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	69
Cuadro 13-3	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES (EXPRESADOS COMO % DE QUERCETINA) DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS-ESPOCH. ENERO. 2015	70
Cuadro 14-3.	RESULTADO DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	71
Cuadro 15-3.	DETERMINACIÓN DEL pH DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	72
Cuadro 16-3.	DETERMINACIÓN DE LA EXTENSIBILIDAD DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	72
Cuadro 17-3.	DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	73
Cuadro 18-3.	DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) Y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.	74
Cuadro 19-3.	RESULTADOS DE LA MEDIDA DIARIA EN cm DE LA HERIDA HASTA EL DESPRENDIMIENTO DE LA COSTRA. ESPOCH. REALIZADO EN EL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ENERO DEL 2015.	75
Cuadro 20-3.	ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL GEL EN RATONES EVALUADO MEDIANTE LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN DE	77

	CADA UNO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. REALIZADO EN EL BIOTERIO. ESPOCH. ENERO 2015.	
Cuadro 21-3.	ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL GEL EN RATONES EVALUADO MEDIANTE LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN DE CADA UNO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. REALIZADO EN EL BIOTERIO. ESPOCH. ENERO 2015.	77
Cuadro 22-3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO, APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO EN RATONES (<i>Mus musculus</i>). ESPOCH. Marzo 2015.	79
Cuadro 23-3.	ANÁLISIS DE ANOVA DE UN FACTOR REALIZADO A LOS RESULTADOS DE LAS APLICACIONES DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. ESPOCH. Marzo 2015	80
Cuadro 24-3.	ANÁLISIS DE ANOVA DE UN FACTOR REALIZADO A LOS RESULTADOS DE LAS APLICACIONES DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. ESPOCH. Marzo 2015	81
Cuadro 25-3.	EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE LA PIEL DE RATONES (<i>Mus musculus</i>) CON HERIDAS INDUCIDAS, PARA LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO CON LA MEZCLA DE LOS EXTRACTOS DE GUARANGO (<i>Cesalpineia spinosa</i>), NOGAL (<i>Juglans regia</i>) y TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>). FEBRERO 2015.	82

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3	CURVA DE ABSORBANCIA VS CONCENTRACION DE QUERCETINA PARA CUANTIFICACION DE FLAVONOIDES. LABORATORIO DE ANALISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS.ESPOCH.2015	70
Gráfico 2-3.	TAMAÑO DE LA HERIDA Y DESPRENDIMIENTO DE LA COSTRA EN cm CON RESPECTO A LOS DÍAS QUE TARDA EN DESPRENDER LA COSTRA. ESPOCH. MARZO 2015.	76
Gráfico 3-3.	PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN. ESPOCH. MARZO 2015.	78
Gráfico 4-3.	DÍAS DE CICATRIZACIÓN CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS APLICADOS. ESPOCH. MARZO 2015.	82
Gráfico 5-3.	Porcentaje de regeneración celular	84

RESUMEN

Se evaluó la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) con heridas menores inducidas en animales de experimentación (Ratones: *Mus musculus*). Para la elaboración del gel se utilizó el extracto de tres especies vegetales, a las cuales se les realizó la debida determinación de los parámetros de calidad físicos, químicos-cualitativos (Tamizaje Fitoquímico), cromatografías, la determinación de los tipos de excipientes y las cantidades adecuadas de extracto para la preparación del gel cicatrizante y su debido control de calidad. Se experimentó en 5 grupos de investigación: A (Control negativo), B (Control positivo: Lamoderm), C (F1: Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%), D (F2: Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%) y E (F3: Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%), administrándoles por vía tópica dos veces al día por un lapso de tiempo de 12 días; y para su posterior estudio histopatológico fue necesaria la extracción de la piel del animal de investigación. El gel presentó un pH adecuado de 6.31, frente al control de calidad sus características son aceptables con ausencia total de microorganismos contaminantes. Las formulaciones optimas resultantes son la F2 y F3 en el que se presentó un 100% de cicatrización de la piel tras su estudio histopatológico. Se concluyó que el gel si posee actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores debido a los metabolitos secundarios que poseen dichas especies vegetales como: compuestos fenólicos y/o taninos, flavonoides y mucilagos, metabolitos que son responsables de la actividad cicatrizante, ideal para la formulación de una forma farmacéutica.

Palabras claves: <ACTIVIDAD CICATRIZANTE> <TAMIZAJE FITOQUÍMICO>
<EXTRACTO DE GUARANGO> < EXTRACTO DE NOGAL> < EXTRACTO DE TOMILLO>
<GEL CICATRIZANTE> <PIEL> <HERIDAS CUTANEAS>
<FITOMEDICAMENTO> <CONTROL DE CALIDAD>

SUMMARY

The healing activity of a gel elaborated based on the extracts from guarango (*Caesalpinia spinosa*), walnut (*Juglans regia*) and thyme (*Thymus vulgaris*) with minor injuries induced in experimental animals (Mice: *Mus musculus*) were evaluated. It was used the extract of three plant species to prepare the gel, which was performed in the proper determination of the physical, chemical - qualitative parameters of quality (screening phytochemical), chromatographies, determining the types of excipients and the suitable quantities of extract for the healing gel preparation and its full quality control. It was experimented in 5 research groups: A (negative control), B (positive control: Lamoderm), C (F1: Guarango 20%, Walnut 5% and Thyme 5%), D (F2: Guarango 15%, Nogal 10% and Thyme 5%) and E (F3: Guarango 10%, Walnut 10% and Thyme 10%), being these providing by mouth twice a day and during 12 days; and for Histopathological study was required removal the skin of the animal in this research. Gel presented a suitable pH of 6.31 compared to quality control; its characteristics are acceptable with total absence of contaminating microorganisms. The optimal formulations resulting are F2 and F3 with a 100% in skin healing after Histopathological study. It was concluded that the gel has healing activity in minor skin wounds because of the secondary metabolites that possess some plants such as: phenolic compounds and/or tannins, flavonoids and mucilages, metabolites that are responsible for the healing activity, perfect for the formulation of a pharmaceutical dosage form.

Keywords: <HEALING ACTIVITY> SCREENING PHYTOCHEMICAL> <GUARANGO EXTRACT> < WALNUT EXTRACT> <THYME EXTRACT> <HEALINGGEL> <SKIN> <SKIN WOUNDS> <PHYTOMEDICINES> <QUALITY CONTROL>

INTRODUCCIÓN

La contribución de esta investigación es de gran importancia para la generación de nuevos productos fitoterapéuticos naturales con características que garanticen eficacia, seguridad y economía, aspectos que en ocasiones aquellas que resultan de síntesis no nos pueden ofrecer debido a lo prolongado que puede resultar para este tipo de patología como es el caso de las heridas que comúnmente son ocasionadas dentro del hogar por causa de objetos cortopunzantes como cuchillos, tijeras, armas de fuego y objetos quebradizos. Este proyecto pretende de cierta forma aportar a la necesidad de la incorporación de los principios activos de tres vegetales en una forma farmacéutica novedosa e innovadora con propiedades cicatrizantes y que en conjunto con la actividad antiséptica y antimicrobiana de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*), garanticen la eficacia de dicha forma farmacéutica, generando un interés para la investigación, el desarrollo, producción industrialización y comercialización de fitomedicamentos estandarizados con buenas prácticas de manufactura en la industria farmacéutica y su viabilidad para la producción a gran escala el mismo que permitirá un acrecentamiento en la economía de nuestro país.

La inaccesibilidad económica de algunas medicinas dificulta el tratamiento a algunos pacientes. Una de las patologías que despierta gran interés en las investigaciones actuales es la cicatrización de heridas cutáneas, que se producen comúnmente en nuestras labores cotidianas ya que estamos expuestos a sufrir accidentes originados por la acción violenta de instrumentos como cuchillos, tijeras, etc. y sucesos variados como caídas que pueden producir la ruptura de la piel, provocando una herida. Induciéndonos a la investigación y generación de nuevos fitofármacos que cubran esta necesidad. (MIRANDA, 2012, págs. 1-2)

En la actualidad de 1094 productos naturales de uso medicinal que son elaborados y comercializados en el Ecuador, el 61% corresponde a fitoterapéuticos que son fabricados por Laboratorios Farmacéuticos Ecuatorianos y apenas un 0.73% del total de fitoterapéuticos se encuentran en forma de presentación de geles. (ARCSA, 2014)

La utilización terapéutica de las plantas medicinales exige por tanto competencia profesional y control legal, para garantizar su uso correcto, así como su producción y comercialización debidamente controlada para asegurar la garantía de calidad, seguridad y eficacia propias de cualquier actividad farmacológica.

Mediante este proyecto se pretende de cierta forma aportar a la investigación de una forma farmacéutica que al incorporar la actividad cicatrizante del extracto de guarango (*Caesalpinia spinosa*), en combinación con la actividad antiséptica y antimicrobiana de los extractos de nogal

(*Juglans regia*), y tomillo (*Thymus vulgaris*), constituyan un fitomedicamento eficaz y seguro capaz de ser evaluado en humanos, tras la posterior investigación en animales de experimentación.

El desarrollo de esta investigación parte desde la extracción misma de los metabolitos responsables de la actividad así como del control de la calidad en la utilización de las plantas medicinales con finalidad terapéutica la misma que pretende garantizar la identidad de la planta por sus características macro y microscópicas realizado en el laboratorio de Fitoquímica, para continuar con los tipos de excipientes y las cantidades adecuadas de extracto para la preparación de un gel cicatrizante, y finalmente la comprobación la actividad cicatrizante del gel elaborado a base de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*), mediante heridas menores inducida en ratones (*Mus musculus*) obtenidos del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, a los cuales se les administró por vía tópica dos veces al día por un lapso de tiempo de 12 días.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Determinar la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) en ratones (*Mus musculus*).

Objetivos Específicos

- Preparar extractos alcohólicos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*); y mediante Tamizaje Fitoquímico identificar los metabolitos secundarios presentes.
- Elaborar un gel a partir de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) aplicando los debidos parámetros de calidad.
- Comprobar la actividad cicatrizante del gel elaborado a base de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) mediante inducción de la herida en la zona de la mitad del tercio inferior del lomo en ratones (*Mus musculus*).

CAPÍTULO I

1.1 Marco Filosófico o Epistemológico de la Investigación

1.1.1 Fitoterapia

La fitoterapia (del griego *fyton*, 'planta', 'vegetal' y *therapeia*, 'terapia'), conocida también como herbolaria (del latín *herba*, 'hierba'), es la ciencia del uso extractivo de plantas medicinales. Los registros más fiables datan el concepto de fitoterapia desde el imperio Sumerio en el año 3000 a.C., sin embargo, es gracias al médico francés Henri Leclerc (1874 – 1955 d. C.) que usa por vez primera el término en su obra “*Précis de Phytothérapie*”. Una traducción etimológica da a entender que se trata de una “terapéutica con plantas”, no obstante esta escueta traducción hace flaco favor al objeto de esta ciencia, pues matizando el concepto se entiende por fitoterapia como “ciencia, y como tal, realiza un estudio cuyo objeto es todo material de origen vegetal con utilidad o finalidad terapéutica; siendo propio de la terapéutica la prevención, atenuación o curación de un estado patológico”. La materia prima vegetal de la que hace uso, sometida a los procedimientos galénicos adecuados permite obtener lo que se conoce como fitofármaco. (MORALES M. , 2007, págs. 134-137)

El conocimiento de las propiedades terapéuticas de las plantas se encuentra en auge debido a los descubrimientos constantes de nuevas especies de plantas, que hacen que día a día se sumen importantes investigaciones clínicas y se descubren o confirman numerosos efectos farmacológicos. (MORALES M. , 2007)

1.2 Antecedentes de investigación

Desde tiempos inmemoriales el hombre ha tratado de mitigar sus dolencias y prolongar su vida. Este hecho se ha observado desde que existen registros históricos, de civilización en civilización, hasta nuestros días. Aun así, el hombre en pleno siglo XXI no ha podido evitar la muerte limitándose a mitigar síntomas de enfermedades y evitar el desarrollo de otras. En épocas en que el hombre sólo tenía a su disposición los recursos que el planeta le otorgaba, buscó en éstos las herramientas para disminuir el dolor físico y evitar la muerte. Entre los recursos más aprovechados por distintas culturas a través de la historia, se encuentran los recursos minerales, animales y vegetales. Éstos constituyeron hasta mediados del siglo XX los recursos terapéuticos por excelencia. (NIGENDA, 2001)

Hoy en día la ciencia confirma la presencia en ellas de compuestos químicos con acciones farmacológicas, denominados principios activos, que constituyen muchas veces los ingredientes primarios utilizados por laboratorios farmacéuticos como punto de partida en el desarrollo de formas comerciales que serán patentadas para su uso terapéutico. Los fitofármacos, por su parte, incluyen aquellos extractos estandarizados producidos a partir de la totalidad de una planta o de sus partes u órganos. Se incluyen como material o droga vegetal a plantas terrestres y también a las algas. Queda aún por definir si los principios activos extraídos de hongos y levaduras deben incluirse como fitofármacos o como se ha propuesto, como fungifármacos. (NIGENDA, 2001)

Nuestro país ha sido testigo de múltiples cambios en cuanto a la estructura económica y productiva como resultado de las circunstancias particulares que se han suscitado en el ámbito político, económico y social. Producto de ello hoy en día el uso de las plantas medicinales ha crecido principalmente en el área alimenticia, farmacológica e industrial, es decir con valor agregado. (AVELLO, 2010)

Benítez N. y Cáceres A, “Indican que a nivel mundial se realizan estudios inter y multidisciplinarios para validar el uso de las plantas y sus derivados con estudios in vitro e in vivo con el fin de convertirlos en materia prima para la elaboración de fitoterapéuticos innovadores, para la prevención, el tratamiento o la curación de patologías”. Una de las patologías que despierta gran interés en las investigaciones actuales es la cicatrización de heridas cutáneas, que se producen comúnmente en nuestras labores cotidianas ya que estamos expuestos a sufrir accidentes originados por la acción violenta de instrumentos como cuchillos, tijeras, etc. y sucesos variados como caídas que pueden producir la ruptura de la piel, provocando una herida.

Los estudios Fitoquímicos nos han permitido aislar e identificar los principios activos de numerosas plantas con importante actividad biológica, tal es el caso de las plantas medicinales. Por el potencial que representan estos metabolitos, las investigaciones se han dirigido a la elucidación de estructuras químicas y evaluación de su actividad biológica mediante bioensayos. (AVELLO, 2010)

La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de droga vegetal, y puede suministrarse bajo diferentes formas galénicas tales como: cápsulas, comprimidos, cremas, geles, infusiones, jarabes, etc. En la Sierra y especialmente en la provincia de Chimborazo por ser muy extensa se encuentran todos los pisos climáticos y por ende una gran variedad de vegetales medicinales como es el caso: del Guarango (*Caesalpinia spinosa*), El

Nogal (*Juglans regia*), y el Tomillo (*Thymus vulgaris*) que al contener diferentes tipos de actividades pueden contribuir como base para la elaboración de una forma farmacéutica.

1.3. Bases Teóricas

1.3.1 Fitoterapia

1.3.1.1 Definición

La fitoterapia (del griego *fyton*, ‘planta’, ‘vegetal’ y *therapeia*, ‘terapia’), conocida también como herbolaria (del latín *herba*, ‘hierba’) es la ciencia del uso extractivo de plantas medicinales o sus derivados con fines terapéuticos, para prevención o tratamiento de patologías. La materia prima vegetal de la que hace uso, sometida a los procedimientos galénicos adecuados permite obtener lo que se conoce como fitofármaco. (LOPEZ M. , 2012, págs. 2-4)

1.3.1.2 Características Generales

A diferencia de la medicina sintética o convencional, la fitoterapia utiliza matrices vegetales complejas. Estas matrices las constituyen plantas enteras, parte de ellas (hojas, raíces, etc.) y también productos de éstas, resultados de tratamientos directos con algún disolvente o medio que concentre los compuestos afines y facilite su administración, son los llamados extractos. En cualquier caso en esta matriz compleja nos encontramos con un sin número de compuestos de diferente naturaleza química, a esta se la llama Fitocomplejo. (AVELLO, 2010, págs. 1-3)

1.3.1.3 Usos

Hoy en día la ciencia confirma la presencia en ellas de compuestos químicos con acciones farmacológicas, denominados principios bioactivos, que constituyen muchas veces los ingredientes primarios utilizados por laboratorios farmacéuticos como punto de partida en el desarrollo de formas comerciales que serán patentadas para su uso terapéutico. Pero también se pueden usar los recursos vegetales con propiedades medicinales para la preparación de extractos estandarizados de plantas o de sus órganos o partes y son denominados fitofármacos. Los fitofármacos alcanzan un papel relevante en la terapéutica moderna y pueden ser utilizados con fines preventivos o de tratamiento de las más diversas patologías y basado en lo que se conoce como la medicina basada en la evidencia. Los fitofármacos incluyen aquellos extractos estandarizados producidos a partir de la totalidad de una planta o de sus partes u órganos. Se

incluyen como material o droga vegetal a plantas terrestres y también a las algas. (LOPEZ M. , 2012, págs. 2-3)

1.3.2 Fitomedicamento

En los fitomedicamentos se reúne el conocimiento ancestral etnobotánico y etnomédico; a estos aspectos, se le suma el moderno conocimiento farmacológico básico y clínico. De esta forma, se continúa el uso de la planta medicinal, ahora en forma de extracto estandarizado y con el respaldo de toda la tecnología farmacéutica actual, lográndose un medicamento que no guarda diferencia en su aspecto y calidad con los medicamentos alopáticos y presentando generalmente mayor rango terapéutico, es decir condiciones de mayor seguridad que hacen confiable su uso como medicamento de venta libre. (MORALES M. , 2008, págs. 13-17)

Fitomedicamentos entonces es un extracto vegetal estandarizado (Fitofármaco), normalizado y estabilizado y del cual se conoce una acción farmacológica definida y cuantificada, fabricado con Tecnología farmacéutica moderna y que su utilización terapéutica está basada en resultados obtenidos de estudios clínicos diseñados y desarrollados de acuerdo a criterios internacionales. Los fitomedicamentos se producen en variadas formas tales como: tabletas, grageas, comprimidos, capsulas, geles, gotas y jarabes. (MORALES M. , 2008, págs. 13-17)

1.3.3 Terapia Tópica

1.3.3.1 Definición

La terapia tópica es la parte de la terapéutica dermatológica que aplica sustancias sobre la piel o las mucosas con el fin de lograr alivio o curación de las lesiones. En la terapia tópica a diferencia de la sistémica, el uso de sustancias farmacológicamente no activas o "inertes", además de actuar como sistema dispensador de drogas (vehículo) cuando son combinados con ellas, van a ejercer per se un efecto físico tan importante, que su uso adecuado va a permitir resolver un gran número de dermatosis. Cuando se aplica en la piel una droga activa, la selección del vehículo debe hacerse tan cuidadosamente como la del principio activo. (RONDÓN, 2008, págs. 17-19)

1.3.3.2 Forma de presentación o forma farmacéutica

La importancia del vehículo en las preparaciones tópicas ha sido reconocido de tal manera, que la escogencia del vehículo a utilizar se hace tan cuidadosamente como la selección de la droga.

En la terapia tópica la selección del vehículo es muy importante, a diferencia de lo que sucede en la terapia sistémica, ya que no sólo funciona como un sistema dispensador del principio activo sino que ejerce per se una acción terapéutica debido a su efecto beneficioso sobre la piel lesionada denominado inespecífico; por ejemplo: refrescante, protector, emoliente, oclusivo, astringente. Al momento de indicar el tratamiento tópico es importante tanto el principio activo como el vehículo utilizado para garantizar efectividad en el tratamiento de las diversas dermatosis; por lo que el vehículo ideal debe reunir las siguientes características:

- Debe ser de fácil aplicación y remoción.
- Químicamente estable.
- Farmacológicamente inerte.
- Compatible con el principio activo.
- Homogéneo.
- No alergénico.
- No irritante.
- No toxico.
- Bacteriostático.
- Cosméticamente aceptable. (RONDÓN, 2008, págs. 17-19)

1.3.3.3 Uso Externo

Teniendo en cuenta las acciones de mayor interés, podemos distinguir los siguientes grupos:

a) Astringente

Ejercen esta acción las plantas ricas en taninos y otros tipos de compuestos como ácidos orgánicos, flavonoides, antocianinas, etc. Sus acciones a nivel de la piel en uso externo son: disminución de las secreciones sebáceas, cierran los poros, reafirman la piel, vasoconstrictoras, descongativas y antiinflamatorias. Sobre todo se emplean en el tratamiento de pieles grasas: Hamamelis, Nogal, Ortiga blanca, Escaramujo, Rosa roja, Zarzamora.

b) Emolientes y suavizantes

Esta acción la posee los mucílagos, pectinas y almidón. Son capaces de retener agua manteniendo una adecuada hidratación y formando una barrera protectora sobre la piel, por lo que ejercen una acción beneficiosas en las pieles secas, prurito, etc.: Lino, Malvavisco, Llantén, Borraja, Saúco, Gordolobo, Violeta, Pensamiento.

c) Antisépticos

Esta acción se debe a que contienen esencia y otras sustancias químicas, como naftoquinonas, lactonas, etc.: Bardana, Caléndula, Hipérico, Hisopo, Ajedrea, Anís estrellado, Nogal, Lavanda, Menta, Albahaca, Orégano, Romero, Salvia, Serpol, Tomillo, Propóleo.

d) Antifúngicos (contra los hongos)

Enula, Propóleo, Nogal, Orégano, Tomillo, Ajedrea, Ajo.

e) Cicatrizantes

La cicatrización se favorece con el empleo de plantas con acción astringente (plantas con taninos), antiséptica (plantas con esencia) y antiinflamatoria (plantas con taninos, mucílagos, azuleno) o bien con aquellas que contienen sustancias como la alantoína o el asiaticósido y que favorecen la regeneración epitelial: Centella asiática, Milenrama, Manzanilla romana, Caléndula, Cola de caballo, Manzanilla común, Consuelda, Agrimonia, Zanahoria. (TABOAS, 2005, págs. 149-153)

1.3.4. Piel

1.3.4.1 Definición

La piel es un órgano, ya que está formado por distintos tejidos que se unen para llevar a cabo actividades específicas. Es uno de los órganos más grandes del cuerpo, tanto en superficie como en peso. En los adultos, la piel cubre un área de alrededor de 2 metros cuadrados y peso entre 4,5 y 5 Kg. Su grosor oscila entre 0,5 y 4 mm, dependiendo de la localización.

Existen dos tipos de piel:

- Piel fina o blanda: es aquella que se encuentra principalmente en los párpados y las zonas genitales. Por otra parte, carece de estrato lúcido
- Piel gruesa: se localiza en la piel labial, plantar y palmar, además esta se caracteriza por tener un estrato corneo muy desarrollado, a comparación del resto de la piel. Está formada por estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinoso y estrato basal. (TORTORA, 1998, págs. 127-136)

1.3.4.2 Características

La piel o membrana cutánea, forma parte del sistema tegumentario, constituido por la piel y sus derivados: el pelo, las uñas y las glándulas subcutáneas. La piel es un órgano porque está formada por diferentes tejidos, unidos para realizar actividades específicas. La piel no solo cubre la superficie del cuerpo sino que realiza, además, varias funciones. (PALACIOS, 1998, págs. 124-127)

1.3.4.3 Estructura de la piel

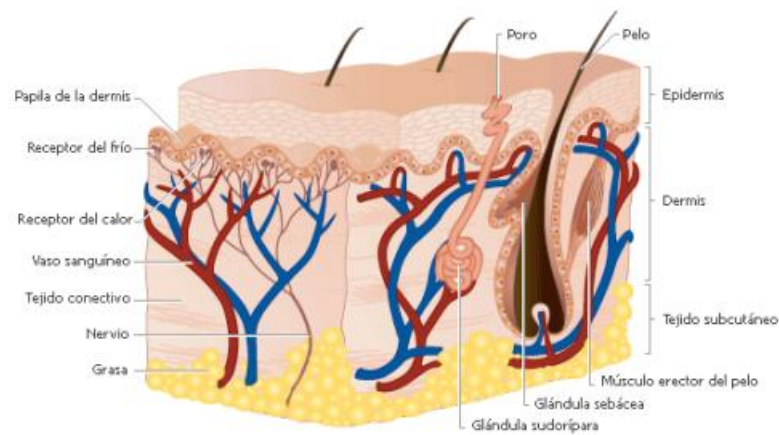


Figura 1-1. Estructura de la piel

Fuente: PALACIOS, 1998. <http://www.educaplus.org/play-228-Estructura-de-la-piel.html>

Desde afuera hacia dentro, se distinguen tres capas de tejido, cuyo origen embriológico es totalmente distinto, perteneciendo cada capa a una capa embriológica diferente:

- La epidermis.
- La dermis o corion.
- El tejido subcutáneo o también denominado hipodermis o subcutis.

1.3.4.3.1 Epidermis

La epidermis es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que cubre la totalidad la superficie corporal. Es la capa de la piel con mayor número de células y con una dinámica de recambio extraordinariamente grande. Presenta un espesor variable, con un valor medio de 0,1 mm., pudiendo alcanzar en zonas como las plantas de los pies y las palmas de las manos espesores de hasta 1 ó 2 mm. (PEREZ, 2006, págs. 17-24)

Está normalmente compuesta por cuatro capas diferentes que desde el exterior hacia el interior serían:

- Capa córnea (stratum corneum).
- Capa granular (stratum granulosum).
- Capa de células espinosas (stratum spinosum).
- Capa basal (stratum basale). (PEREZ, 2006, págs. 17-24)

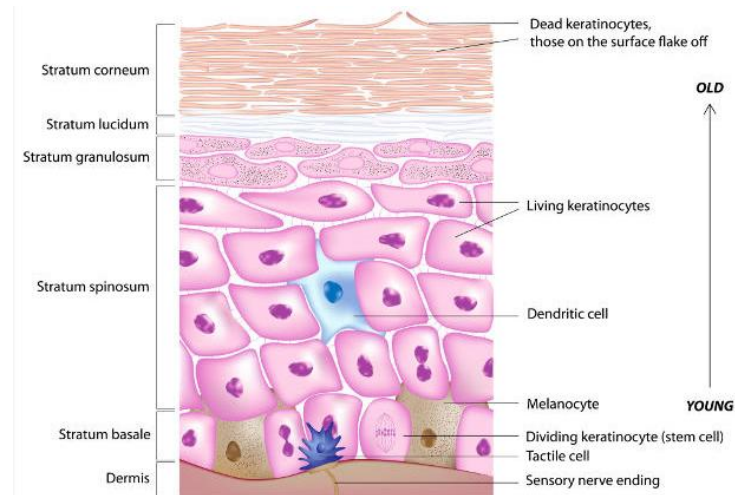


Figura 2-1. Capas de la Epidermis

Fuente: PEREZ, 2006. <http://www.iqb.es/dermatologia/atlas/anatomia/anatomia08.htm>

Se considera que la epidermis está formada por queratinocitos, debido a la capacidad de estas células de sintetizar queratina. Las queratinas son una familia de proteínas estructurales insolubles en agua y con una gran resistencia frente a cambios en el pH y a elevadas temperaturas. También presentan una fuerte resistencia a la degradación enzimática. Globalmente se subdividen en dos grupos, las queratinas duras o α (alfa) que forman parte del pelo y uñas; y las blandas o β (beta) que son el elemento esencial de la capa córnea. Aunque los queratinocitos constituyen el 80% de las células epidérmicas, también se encuentran otros tipos celulares:

- a) Los melanocitos, que suponen alrededor del 10% de las células epidérmicas y que son las células encargadas de la síntesis de melanina, pigmento que da color a la piel y protección frente a los rayos ultravioletas (UVA).
- b) Las células de Langerhans, que son células provenientes de la médula ósea, emigradas a la piel y que forman parte del sistema inmunitario. Tal como hemos comentado anteriormente una de las funciones que desarrolla la piel es la defensa inmunitaria.

c) Las células de Merkel, son células sensoriales, situadas en el estrato basal y contactan con terminaciones de neuronas sensoriales para transmitir información de tacto. (PEREZ, 2006, págs. 93-99)

1.3.4.3.2 Dermis

La dermis es la estructura de soporte de la piel y le proporciona resistencia y elasticidad. Está formada básicamente de tejido conectivo fibroelástico. La matriz extracelular contiene una elevada proporción de fibras, no muy compactadas, de colágeno (>75%), elastina y reticulina. Es un tejido vascularizado que sirve de soporte y alimento a la epidermis. Constituye la mayor masa de la piel y su grosor máximo es de unos 5 mm. Histológicamente, se divide en dos capas, que desde el exterior al interior son:

- La capa papilar (stratum papillare).
- La capa reticular (stratum reticulare).

La capa papilar recibe ese nombre por la presencia de proyecciones hacia el interior de la epidermis, estas proyecciones se denominan papilas dérmicas y se alternan con los procesos interpapilares de la epidermis. En las papilas se encuentran las asas capilares (sistema circulatorio) que proporcionan los nutrientes a la epidermis avascular. La capa papilar también contiene numerosas terminaciones nerviosas, receptores sensoriales y vasos linfáticos. La capa reticular es más gruesa que la papilar, y recibe ese nombre por el entramado o retícula de las fibras colágenas que forman gruesos haces entrelazados con haces de fibras elásticas. Esta estructura es la que proporciona elasticidad y capacidad de adaptación a movimientos y cambios de volumen. (PEREZ, 2006, págs. 93-99)

1.3.4.3.3 Hipodermis o tejido subcutáneo

Es la capa inferior de la piel, está formado por células adiposas, además de vasos sanguíneos y nervios. Representa la reserva energética más importante del organismo gracias al almacenamiento y la liberación de ácidos grasos. Su espesor varía considerablemente, según el estado nutricional del individuo. (JASON, 2009, pág. 146)

Sirve como almohadilla absorbente de golpes, protegiendo estructuras vitales; manteniendo el calor corporal, al actuar de aislante y de reservorio de energía en caso de ayuno. Además, permite el desplazamiento y movilidad de la piel sobre los planos profundos. Es el soporte de

vasos sanguíneos y nervios que pasan desde los tejidos subyacentes hacia la dermis. Los folículos pilosos y glándulas sudoríparas se originan en este nivel. (MOORE, 2010, págs. 12-15)

1.3.4.4 Funciones de la piel

La estructura de la piel y los procesos fisiológicos que en ella se producen facilitan diferentes funciones integrales:

- **Regulación de la temperatura corporal:** Es el principal elemento para la regulación de la temperatura corporal, conservando el calor mediante vasoconstricción y con su propia estructura anatómica aislante (especialmente la grasa hipodérmica), enfría mediante la vasodilatación y evaporación del sudor.
- **Protección:** cubre al organismo y proporciona una barrera física que protege a los tejidos subyacentes de la abrasión física, la invasión bacteriana, la deshidratación y la radiación ultravioleta. (JASON, 2009) (MOORE, 2010, págs. 12-15)
- **Sensibilidad:** contiene abundantes terminaciones nerviosas y receptoras que detectan los estímulos relacionados con la temperatura, el tacto, la presión y el dolor.
- **Excreción:** elimina una cierta cantidad de agua y el sudor que contiene pequeñas cantidades de sales y de varios compuestos orgánicos.
- **Inmunidad:** determinadas células de la epidermis son componentes importantes del sistema inmune, que mantiene alijado a los invasores extraños.
- **Reservorio de sangre:** la dermis de la piel alberga una amplia red de vasos sanguíneos.
- **Síntesis de vitamina D:** Interviene en la síntesis de la vitamina D a partir del 7-deihidrocolesterol, contenido en los queratinocitos y convertido en colecalciferol por los rayos solares.
- **Función de lubricación**
- **Reparación de heridas**
- **Se la podría considerar como un órgano de expresión,** por su capacidad de revelar los estados anímicos muy diversos: vergüenza (rubor), ira (enrojecimiento), temor (palidez), ansiedad (sudor), etc. (MOORE, 2010, págs. 12-15)

1.3.4.4 Composición química de la piel

La piel está constituida principalmente por cuatro componentes químicos:

- *Agua:* constituye el 70-80 % de la piel y el 10-15 % pertenece a la capa córnea. El agua se encuentra en la piel bajo dos estados: intercelular en el estrato córneo e intracelular bien fijada en las grandes moléculas de la dermis (colágeno y elastina), impregnando como una esponja a las sustancias hidrófilas de la dermis.
- Para que la capa córnea permanezca bien hidratada, es necesario que exista un equilibrio entre la difusión (que es el paso de agua desde la dermis hasta la epidermis) y la evaporación en la superficie y al mismo tiempo que la capacidad de la capa córnea para fijar el agua, sea óptima. Es este efecto barrera del estrato córneo, el que debe ser mantenido y a veces restaurado porque es la garantía de una buena hidratación.
- *Carbohidratos:* lo forman la glucosa y ciertos glúcidos complejos llamados mucopolisacáridos.
- *Lípidos:* aseguran el mantenimiento de la acidez de la piel y su protección contra los microbios. Ejemplo: colesterol, fosfolípidos, entre otros.
- *Proteínas:* formadas por largas cadenas de aminoácidos. Estas moléculas sirven para formar los tejidos, tal como la elastina, el colágeno, entre otros. (KLUWER, 2009, págs. 12-15)

1.3.5 Heridas

1.3.5.1 Definición

Son lesiones que producen pérdida de la integridad de los tejidos blandos. Son producidas por agentes externos, como un cuchillo o agentes internos como un hueso fracturado; pueden ser abiertas o cerradas, leves o complicadas. (Cruz Roja Española, 2008)

1.3.5.2 Señales

Las principales señales que se presentan ante una herida son: el dolor, la hemorragia, la destrucción o el daño parcial o total de los tejidos blandos. (Cruz Roja Española, 2008)

1.3.5.3 Clasificación de las heridas

- Heridas abiertas: En este tipo de heridas se observa la separación de los tejidos blandos, de la piel. Son las más susceptibles a la infección.
- Heridas cerradas: Son aquellas en las que no se observa la separación de los tejidos, generalmente son producidas por golpes; la hemorragia se acumula debajo de la piel (hematoma), en cavidades.

- Heridas simples: Son heridas que afectan la piel, sin ocasionar daño en órganos importantes. Ejemplo: Arañazo o cortaduras superficiales.
- Heridas complicadas: Son heridas extensas y profundas con hemorragia abundante; generalmente hay lesiones en músculos, tendones, nervios, vasos sanguíneos, órganos internos y puede o no presentarse perforación visceral. (Cruz Roja Española, 2008)

1.3.5.4 Síntomas comunes de las heridas

Estos síntomas varían en función de su localización, complejidad, profundidad, etc. Hay varios síntomas que si pueden darse en todo tipo de heridas; éstos son:

- *Dolor*: variará en función de la zona afectada, de la manera de producción de la herida y de la sensibilidad del accidentado. Tiene como causas el traumatismo y la exposición de las terminaciones sensitivas al aire.
- *Hemorragia*: es la pérdida de sangre y depende de la elasticidad de los tejidos y de cómo se haya producido la herida. Si el sangrado es abundante, se deberá llamar al número de asistencia médica de emergencia.
- *Separación de bordes*: también dependerá de la elasticidad de los tejidos afectados por la solución de continuidad.
- *Pérdida de la sensibilidad en la zona afectada*. (MENDOZA, 1989, págs. 45-50)

1.3.6 Cicatrización

1.3.6.1 Definición

La cicatrización es un proceso biológico mediante el cual los tejidos vivos reparan sus heridas dejando para el caso de las heridas cutáneas- una cicatriz que puede ser estética o inestética. (INGBER, 2015)

1.3.6.2 Fases de la cicatrización

- a) En la **fase inflamatoria**, se fagocitan y eliminan las bacterias la suciedad, y se liberan factores que producen la migración y división de las células que toman parte en la fase proliferativa.
- b) La **fase proliferativa** se caracteriza por la angiogénesis, el aumento de colágeno, la formación de tejido granular, la epitelialización, y la contracción de la herida. En la

angiogénesis, crecen nuevos vasos sanguíneos a partir de células endoteliales. En la fibroplasia y formación de tejido granular, los fibroblastos crecen y forman una nueva matriz extracelular provisoria (ECM, por las siglas en inglés: *ExtraCellular Matrix*) mediante la secreción de colágeno y fibronectina.

- c) En la **fase de maduración y remodelado**, el colágeno es remodelado y realineado a lo largo de las líneas de tensión y las células que ya no se precisan son eliminadas mediante una apoptosis. (INGBER, 2015)

1.3.6.3 Factores que retardan la cicatrización

El conocimiento de las ciencias básicas de la cicatrización de la herida es crucial para el clínico. Un número sin límite de factores paciente influyen en cada paso de este complejo proceso. Si se entiende la biología elemental, se puede modificar en grado significativo la capacidad de curación del paciente (ROMERO, 2002, págs. 13-20)

- **La edad del paciente:** El avance de la edad interfiere con la cicatrización especialmente con la tasa de crecimiento y de multiplicación de los fibroblastos.
- **Nutrición.** Se conoce que el efecto adverso de la desnutrición proteica sobre el proceso de cicatrización, posiblemente por la interferencia en la síntesis de colágeno.
- **El peso del paciente:** En los pacientes obesos de cualquier edad, debido al exceso de grasa a nivel de la herida se dificulta un buen cierre por planos y en adición, la grasa no tiene buen suministro de sangre, lo que hace más vulnerable a estos tejidos ante un trauma o una infección.
- **Infección de la herida:** La infección bacteriana de una herida, especialmente por ciertos organismos como el *Estreptococo* beta-hemolítico y *Pseudomona*, retrasan la cicatrización. La inmunosupresión, los corticoides y la malnutrición son factores predisponentes a la infección de las heridas.
- **Fármacos:** Los corticoides, quimioterápicos e inmunosupresores, alteran la normal respuesta de las células responsables de la fase inflamatoria de la cicatrización, causando una deficiencia en la reparación tisular.
- **Deshidratación.-** Si existe una depleción de los fluidos en el cuerpo humano, los resultados del desbalance en la función del riñón, el metabolismo celular, la oxigenación de la sangre y la función hormonal no solo impactan en las condiciones generales del paciente y su recuperación, sino también que retrasan el proceso de cicatrización.
- **Enfermedades sistémicas:** Diabetes, vasculopatía periférica, fumadores (nicotina), alcoholismo, anemia, empeoran la cicatrización. (ROMERO, 2002, págs. 13-20)

1.3.6.4 Cicatrización patológica

- **Cicatrización defectuosa:** hundidas, separadas, irregulares, montadas y las adheridas a planos profundos. El tratamiento es la extirpación y sutura por planos.
- **Cicatrización patológica:** las calcificadas; las que tras continuos intentos de cicatrización con solo epitelio degeneran en carcinoma epidermoide; las hipertróficas y las queloides. Las cicatrices hipertróficas son elevadas, eritematosas y pueden originar prurito o dolor. El queloide es también elevado, eritematoso y pruriginoso pero se extiende a la piel sana más allá de la zona del trauma. (OROZCO, 2013)

1.3.7 Metabolitos Secundarios que Contribuyen a la Cicatrización

1.3.7.1 Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos amarillos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc.

Los flavonoides son metabolitos secundarios de bajo peso molecular, que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C₆-C₃-C₆), generalmente se encuentran como O- glicósidos en sus fuentes naturales, aunque también se encuentran de forma natural como C-glicósidos. Poseen un origen biosintético común y, por ese motivo, un mismo elemento estructural básico con diferentes grados de oxidación, dando lugar a las distintas familias estructurales: flavonas, flavonoles, flavanonas, catequinas (o flavanoles), antocianos, isoflavonas, chalconas y auronas. (GONZALES, 2008)

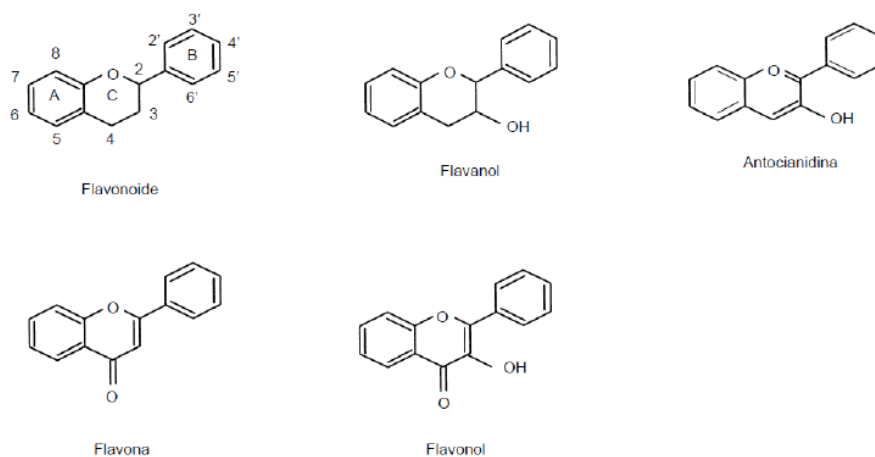


Figura 3-1. Flavonoides. Estructura Básica y Tipos

Fuente: GONZALES, 2008. <http://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c4.htm>

Se conocen unos 900 flavonoides naturales, se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres o como glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Las agliconas son más frecuentes en tejidos leñosos. Los flavonoides presentan todos los matices de solubilidad, desde totalmente soluble en el agua hasta insolubles en ella, pero solubles en éter etílico (las aglicona muy eterificadas), pasando por los solubles en etanol (agliconas), son insolubles en éter de petróleo por lo que permite desengrasar un material antes de extraerlo. Los que tienen mayor interés farmacológico son las flavonas, flavonoles y flavanonas. (GONZALES, 2008)

1.3.7.1.1 Propiedades

- **Fragilidad capilar:** Los flavonoides son importantes para la salud de los vasos sanguíneos. Regulan la permeabilidad del capilar, por eso detienen el flujo de proteínas y células de sangre, pero permiten el flujo de oxígeno, dióxido de carbono y otros nutrientes.
- **Cicatrizante:** Los flavonoides como la quercetina, kampferol, etc., favorecen la proliferación de fibroblastos normales de la piel en presencia de vitamina C, lo que finalmente se traduce en un aumento en la síntesis de colágena y fibronectina extracelular. Las antocianidinas promueven la expresión del factor de crecimiento endotelial en los queratinocitos, por lo que favorecen la angiogénesis en las heridas y en los problemas de cicatrización. Su aplicación acelera la contracción de la herida y su cierre, y aumenta la expresión del factor de crecimiento endotelial en el tejido del borde de la herida, lo que se ha relacionado con una mayor densidad celular, mayor deposición de tejido conectivo y otros efectos benéficos.
- **Antiinflamatoria y analgésica:** a los flavonoides se les ha asociado principalmente con su acción antiinflamatoria, debido a sus efectos antioxidantes y a su capacidad de actuar contra las histaminas y otros mediadores de los procesos inflamatorios como son las prostaglandinas y los leucotrienos. (PAZ, 2007)
- **Antioxidante:** la mayoría de ellos en especial las catequinas del té verde, tiene una alta capacidad para neutralizar los radicales libres e impedir efectos que estos ejercen en la salud de nuestro organismo. (FONNEGRA, 2007)
- **Anticanceroso:** Procesamiento fisiológico de compuestos flavonoides no deseado provoca los llamados enzimas de fase II que también ayudan a eliminar mutágenos y cancerígenos, y por lo tanto puede ser de utilidad en la prevención del cáncer. Los flavonoides también podría inducir a los mecanismos que pueden destruir las células cancerosas e inhibe la invasión tumoral.
- **Disminución del colesterol:** poseen la capacidad de disminuir la concentración de colesterol y de triglicéridos. (PAZ, 2007)

- (PAZ, 2007)
- En cosmética presentan también un papel importante por su capacidad de disminuir la hiperpigmentación de la piel que se produce durante el embarazo y la vejez. (GONZALES, 2008)

1.3.7.2 Taninos

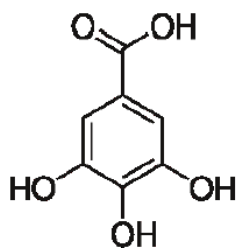


Figura N° 4-1. Tanino. Ácido gálico.
FUENTE: VIMOS, 2005. <http://www.rdnatural.es/blog/taninos/>

Están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina), de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, actúan en el cuerpo humano uniendo las proteínas de la piel y de la mucosa, transformándolas en sustancias insolubles resistentes. Quitan la base de cultivos a las bacterias que han colonizado la piel o las mucosas. Son también agentes quelantes; por esta razón se utilizan como antídoto en intoxicaciones causadas por metales pesados (mercurio, plomo, estaño, cinc). Se oxidan con facilidad, sobre todo en medio ácido, y pueden actuar como reductores de ciertos compuestos. Los taninos se disuelven en agua formando disoluciones coloidales, son solubles en alcoholes y en acetona. (VIMOS, 2005)

1.3.7.2.1 Clasificación

1.3.7.2.1.1 Taninos hidrolizables

Son polímeros heterogéneos formados por ácidos fenólicos, en particular ácido gálico, y azúcares simples. Son más pequeños que los taninos condensados y son hidrolizados con más facilidad

1.3.7.2.1.2 Taninos condensados o proantocianidinas

Son polímeros de un flavonoide llamado antocianidina. Es común encontrarlos en la madera de las plantas leñosas. Además tienen supuestamente la capacidad para estabilizar el colágeno y elastina, por lo que mejoran la elasticidad, flexibilidad y apariencia de la piel. (OROZCO, 2013)

1.3.7.2.2 Propiedades

- Astringente. Por su capacidad de unión a proteínas. Confiere propiedades antidiarreicas, como la infusión de hojas de zarzamora. Uso externo se emplea como cicatrizante, al unirse a la piel forma una capa protectora que permite que los tejidos subyacentes se regeneren. Al coagular las proteínas de la epidermis se disminuye la permeabilidad y secreción, razón por lo que se utiliza en el tratamiento de dermatitis atópica y de contacto ya que disminuye la inflamación y escozor.
- Hemostático local y cicatrizante. En la curación de heridas y cuidado de la piel, los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática, al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de las costras al unirse las proteínas con los taninos y crear un medio “seco” que impide el desarrollo de las bacterias. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y, por tanto, contribuyen a la curación de las heridas. La milenrama o el llantén, por ejemplo, son dos plantas que se utilizan con esta finalidad.
- Antiséptico local. Su capacidad de precipitar proteínas les otorgan propiedades antibacterianas, aportando valor en el tratamiento de heridas y llagas de piel y mucosas. Por ejemplo, el uso de ratania en la higiene y cuidado bucofaríngeo.
- Antiinflamatorio y favorecedor del retorno venoso. Es muy extendido el uso, oral o tópico, de preparados con plantas ricas en taninos (hamamelis, castaño de indias) en el tratamiento de problemas vasculares, como varices y hemorroides. Algunas proantocianidinas inhiben a mediadores de la inflamación, de ahí su efectividad. (23)
- Antioxidante. Tienen capacidad de estabilizar especies reactivas al oxígeno. Esto proporciona un campo de acción terapéutica muy extenso: daño oxidativo, procesos inflamatorios y procesos degenerativos. (OROZCO, 2013)

1.3.7.3 Mucílagos

Son polisacáridos, glúcidos de larga cadena, difundidos en plantas llamadas mucilaginosas. Son en parte solubles en agua en el cual se hinchan y es esta propiedad específica la que se usa en

terapia. Se forman en los procesos vitales de los vegetales y aseguran a las plantas protección contra la sequedad y el desecamiento. Muchas plantas mucilaginosas están acompañadas de sustancias químicas de efecto antibiótico. No se absorben por uso tópico, pero se estratifican en los tejidos o sobre las mucosas manifestando una acción protectora, vulneraria, antiulcerosa y hemostática. (OROZCO, 2013)

1.3.7.3.1 Propiedades

- En pequeñas dosis las plantas mucilaginosas pueden ser antidiarreicas al absorber los líquidos presentes en el intestino y antiácidas porque recubren con un estrato viscoso uniforme las paredes mucosas; igualmente pueden manifestar acción antitusígena por acción calmante directa sobre las mucosas irritadas de las vías respiratorias.
- Útil para el control del colesterol, ya que la sustancia gelatinosa que crea, envuelve el colesterol impidiendo la entrada en la sangre.
- Actúa contra las inflamaciones de las mucosas tanto respiratorias como digestivas (indigestión, gastritis, etc.). (OROZCO, 2013)
- Los mucílagos tienen propiedades hidratadoras y protectoras de la piel. Favorece la aplicación de cataplasma, siendo también un buen protector sobre heridas, quemaduras o cortes. (OROZCO, 2013)

1.3.8 Vegetales

*1.3.8.1 Guarango (*Caesalpinia spinosa*)*



Figura N° 5-1. Guarango

Fuente: CARRILLO, M. <http://www.arbolesornamentales.es/Caesalpiniaspinosa.htm>

Conocida comúnmente como tara o guarango es una leguminosa de porte arbustivo natural del Perú. Cultivada como fuente de taninos y también como planta ornamental debido a sus coloridas flores e inflorescencias. Se encuentra en la familia de las Fabaceae. Se distribuye en el norte de América del Sur y de África. (CARRILLO, 2014, págs. 2-4)

1.3.8.1.1 Descripción

Crece típicamente 2-5 m de altura, su corteza es de color gris oscuro, con espinas dispersas y ramas peludas. Las hojas son alternas, de hoja perenne, que carecen de estípulas, bipinnadas, y que carecen de glándulas peciolares y raquis. Las hojas se componen de 3-10 pares de folíolos primarios menores de 8 cm de largo y 5-7 pares de folíolos elípticos subsésiles secundarias, cada una de aproximadamente 1,5 a 4 cm de largo. Las inflorescencias son racimos terminales de 15 a 20 cm de largo, muchas flores y cubierto de diminutos pelos. Las flores son de color amarillo a naranja con pétalos de 6-7mm, el sépalo más baja es en forma de barco con muchos dientes marginales de largo; estambres son de color amarillo, irregular de longitud y apenas sobresale. El fruto es una superficie plana, oblonga vaina indehisciente, a unos 6-12 cm de largo y 2,5 cm de ancho, conteniendo 4-7 semillas negras, redondas, y se enrojecen cuando madura. (IDARRAGA, 2013, págs. 2-4)

1.3.8.1.2 Taxonomía

Tabla N° 1-1. Clasificación científica del Guarango (*Caesalpineia spinosa*)

GUARANGO	
Clasificación Científica	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Fabales</i>
Familia:	<i>Fabaceae</i>
Subfamilia:	<i>Caesalpinioideae</i>
Tribu:	<i>Caesalpinieae</i>
Género:	<i>Caesalpineia</i>
Especie:	<i>Caesalpineia spinosa</i>

Realizado por: CHARCO, Jhony. 20015

Fuente: <http://www.ecuadorforestal.org/download/contenido/tara.pdf>

1.3.8.1.3 Usos

Vainas: Son una excelente fuente de taninos amigables con el ambiente más comúnmente utilizados en la fabricación de muebles de cuero y una industria en crecimiento se está desarrollando en torno a su producción en el Ecuador. Los taninos son del tipo hidrolizable. El ácido gálico es el principal constituyente de la tara taninos y puede ser fácilmente aislado por hidrólisis alcalina del extracto de la planta. El ácido quínico es también un constituyente de la tara taninos. (IDARRAGA, 2013)

La goma de tara es un polvo blanco o amarillento, casi inodoro que se produce mediante la separación y triturando el endospermo de las semillas de *C. spinosa*. El componente principal de la goma de galactomanano es un polímero similar a los principales componentes de gomas de guar y garrofin que se utilizan ampliamente en la industria alimentaria. La goma de tara ha sido considerado seguro para el consumo humano como un aditivo alimentario. La goma de tara se usa como un agente espesante y estabilizante en una serie de aplicaciones de alimentos. Una solución de la goma de tara es menos viscosa que una solución de goma de guar de la misma concentración, pero más viscosa que una solución de goma de algarroba. (IDARRAGA, 2013)

1.3.8.1.4 Aprovechamiento

- **MEDICINAL:** Actúa contra la amigdalitis al hacer gárgaras con la infusión de las vainas maduras y como cicatrizante cuando se lavan heridas con dicha infusión. Además, la tara es utilizada contra la estomatitis, la gripe y la fiebre.
- **TINTE:** Las vainas del Guarango contienen una sustancia llamadas taninos, la cual es utilizada para teñir de color negro. Las raíces pueden teñir de color azul oscuro.
- **CURTIENTE:** Debido a su alto contenido de tanino, se apreciada por las curtiembres y las empresas de alimentos que requieren de espesantes.
- **COSMÉTICO:** El cocimiento de las hojas se utiliza para evitar la caída del cabello.
- **AGROFORESTERÍA:** Usada como cerco vivo y para el manejo de rebrotes.
- **PLAGUICIDA:** El agua de la cocción de las vainas secas es efectivo contra piojos e insectos. (MACBRIDE, 2009)

1.3.8.1.5 Composición química del Guarango

- Hojas: Contiene glicósidos, gomas, mucílagos, taninos (12.7% en la forma de taninos gálicos), antraquinonas: reína, sennósido, agliconas libres, C-glicósidos, aloe-emodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides.

- Vainas: Contiene taninos hidrolizables (galotaninos) en un rango de 40% a 60% según las condiciones ecológicas en las que vegeta, la hidrólisis de estos taninos conduce a la separación del ácido gálico; asimismo se han aislado galato de etilo y cuatro galatos del ácido quínico correspondiendo a los ésteres metílicos de 4,5-di-O-galoilquínico y de 3,4,5-tri-O-galoilquínico, y a los ácidos 3,4-di-O-galoilquínico y 3,4,5-tri-O-galoilquínico.
- Semillas: Del endospermo se ha separado la goma o hidrocoloide galactomanánico en la que los componentes monoméricos galactosa y manosa se encuentran en una relación de 41:70. La viscosidad intrínseca permitió determinar su peso molecular promedio en 351400, así mismo la goma da lugar a soluciones acuosas con característica de fluido pseudoplástico con una viscosidad promedio de 4000 cp. (HUARINO, 2011, págs. 24-25)

*1.3.8.2 Nogal (*Juglans regia*)*

1.3.8.2.1 Origen

El Nogal es nativo de la Región que incluye Turquía, Irán, Iraq, Afganistán. El género *Juglans* se considera originario de Asia, de Persia paso a Grecia, donde se le conoció como nuez persa o real, de estos hechos la especie toma su nombre científico. (MENENDEZ, 2004)

Su cultivo se remonta aproximadamente al año 1000 antes de Cristo, siendo una especie apreciada no solo por sus frutos sino también por las propiedades medicinales. El nogal introducida en Sudamérica, ahora distribuida en los Andes Sudamericanos especialmente en Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia. En el Ecuador se halla en la región interandina, en los valles y en la cordillera de los Andes. (MENENDEZ, 2004)

1.3.8.2.2 Importancia

El nogal es una especie de mayor interés económica, en el Ecuador por su madera ya que con ellas elaboran muebles de calidad, con sus nueces se elaboran exitosos pasteles y también es utilizado en varias áreas de la medicina. (INFOJARDIN, 2004)

1.3.8.2.3 Indicaciones

Aceite: Es utilizado para pieles secas, ictiosis, psoriasis, quemaduras, eczemas seco

Uso Interno

Diabetes: Las hojas de nogal, poseen un alto contenido en taninos, razón por lo cual es considerado un excelente depurativo en problemas de azúcar en la sangre, como antidiabético se usan las decocciones de hojas de nogal 30 g/ L de agua. (INFOJARDIN, 2004)

Diarrea: Las hojas, por su contenido en taninos, son astringentes y pueden utilizarse para combatir la diarrea. (INFOJARDIN, 2004)

Uso externo

Tratamiento para la piel:

Se efectúan, utilizarse para tratar problemas de la piel como eccemas, psoriasis, dermatitis, granos, prurito, etc. Infusión al 10% de hojas en un litro de agua, emplear compresas mojadas sobre la zona afectada. (Botanical-Online, 1999)

En cuanto al uso tópico se utilizan para las heridas, ulceraciones dérmicas, blefaritis, abscesos, conjuntivitis, estomatitis, faringitis, prurito, vulvovaginitis etc. (Botanical-Online, 1999)

1.3.8.2.4 Posología

- **Extracto fluido:** (1:1) de hojas 30-50 gotas, una a tres veces al día.
- **Tintura de hojas** (1:10) 50-100 gotas, tres veces al día
- **Decocción:** 50 g / L tres veces al día.

1.3.8.2.5 Principios Activos

Hojas:

- **Naftoquinonas:** beta hidroplumbanina, juglona, plumbagina.
- **Taninos:** 3-4 % catequinas.
- **Trazas** de aceite esencial con germacraneno –D
- **Flavonoides:** quercitina, hiperosido
- **Ácidos fenol carboxílicos:** galico, cafeico (Botanical-Online, 1999)

Pericarpio:

- Ácidos orgánicos
- Naftoquinonas: hidrojuglona

Cotiledones:

- Ácidos grasos insaturados: (linoleico, linolenico)
- Tegumento: Polifenoles: ácido galico y elagico.

Parte utilizada

- El aceite (cotiledones)
- Hojas
- Pericarpio de los frutos. (Botanical-Online, 1999)

1.3.8.2.6 Acción Farmacológica

La presencia de los taninos otorga propiedades astringente, cicatrizante, antiséptico, hemostático local antisudoral, eupéptico colagogo hipoglucemiante, antihelmíntico. La acción de los flavonoides, producen un efecto protector capilar, diurético, el aceite de nogal es emoliente e hipolipemiante. (Botanical-Online, 1999)

1.3.8.2.7 Contraindicaciones

Los alcaloides en tratamientos con sales de hierro, los taninos en patología como gastritis, úlcera gastroduodenal, pueden irritar la mucosa gástrica, se muestra este efecto secundario, se puede paliar asociando a drogas con mucilagos. Se recomienda no administrar con otras drogas, ante la ausencia de datos con respecto a la posible interacción, con otras medicaciones. (Botanical-Online, 1999)

No prescribir, formas de dosificación con contenido alcohólico por vía oral en niños menores de dos años y a los pacientes etílicos. (Botanical-Online, 1999)

1.3.8.3 Tomillo (*Thymus vulgaris*)

2.3.8.3.1 Taxonomía

Tabla N° 2-1. Clasificación Científica del Tomillo (*Thymus vulgaris*)

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA	
Nombre Científico:	<i>Thymus vulgaris</i> L
Nombres populares	Español: Tomillo, Tomillo de jardín, tremoncillo, carrasquilla. Portugués: Tomilho Inglés: Thyme Otros: Timo (Italiano), thymvrai (Francés), EchterThymian (Alemán)
Familia:	Lamiaceae

Realizado por: CHARCO, Jhony. 2015

Fuente: <http://fichas.infojardin.com/condimentos/thymus-vulgaris-tomillo-tremoncillo.htm>

1.3.8.3.2 Descripción Botánica

Se trata de un subarbusto aromático y perenne, perteneciente a la familia de las Labiadas (Lamiáceas) caracterizado por presentar una altura variable entre 10 y 40 cm; tallos leñosos tortuosos, muy ramificados y grisáceos; hojas pequeñas opuestas, verde-grisáceas, enteras, lineares o elípticas, de hasta de 15mm de largo, con envés tomentoso; flores pequeñas bilabiadas de color lila o blanco, dispuestas en inflorescencia terminales densas o laxas, que hacen su aparición desde principios de verano hasta finales de otoño. El fruto es un aquenio ovoide liso. Tiene un penetrante olor aromático. (AGUAY, 2012, págs. 29-36)

1.3.8.3.3 Parte utilizada

Sumidad florida seca (el tallo con las brácteas y flores). El olor es aromático intenso y característico, fuerte, penetrante; en tanto el sabor también es aromático y ligeramente picante, canforáceo, muy pronunciado. (AGUAY, 2012)

2.3.8.3.4 Composición Química

a) Aceite Esencial (0,8-2,5%)

Está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos como timol (40%), p-cimeno (15-50%), alcanfor (11-16%), carvacrol (2,5-14,6%), linalol (4%), 1,8-cineol (3%), -terpineno (1-5%), borneol, acetato de bornilo, acetato de linalilo, geraniol, α - β pineno, limoneno, α -terpineol, β -cariofileno, β -terpineol, γ -cadineno, verbenona, tuyen-4-ol, etc. (AGUAY, 2012)

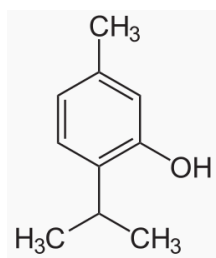


Figura N° 6-1. Timol

Fuente: AGUAY, J. 2012. <http://www.salud180.com/sustancias/timol>

b) Flavonoides

Principalmente heterósidos del luteol y apigenol, y en menor medida flavonas metoxiladas: cosmosíina, timonina, isotimonina, 8-dimetil-timonina, timusina, naringenina, eriodictiol,

cirsimaritina, xantomicro, 5-desmetilnobiletina, 5-desmetilsinensetina, sideritoflavona, cirsilineol y 8-metoxi-cirsilineol. También se ha señalado la presencia de flavanonas, flavonoles y heterósidos de luteolina. (AGUAY, 2012)

Otros: Taninos (7-10%), serpilina (principio amargo), saponinas ácidas y neutras, ácidos labiático, oleanólico y ursólico (1,5%), ácidos fenilcarboxílicos (clorogénico y cafeico), ácido rosmarínico (1%), ácido litospérmico, resinas, taninos. (AGUAY, 2012)

1.3.8.3.5 Análisis Proximal por 100 g de hojas frescas

Calorías (276); agua (7,8 g); proteínas (9,1 g); grasas (7,4 g); carbohidratos (63,9 g); fibra (18,6 g); cenizas (11,7 g); calcio (1.890 mg); fósforo (201 mg); hierro (123 mg); sodio (55 mg); potasio (814 mg); carotenos (2.260); tiamina (0,5 mg); niacina (4,9 mg). Las semillas contienen proteína (28,2g) y grasas (38,9g). (AGUAY, 2012)

1.3.8.3.6 Acciones Farmacológicas

En caso del tomillo es ilustrativo a la hora de especificar su actividad biológica respecto a la especie botánica seleccionada, ya que la composición fitoquímica puede variar enormemente de un ejemplar al otro. Las principales propiedades terapéuticas del tomillo están en relación a la composición fenólica del aceite esencial desarrollando actividad antitusiva, expectorante, antimicrobiana, antioxidante y antiespasmódica.

- **Actividad antiespasmódica y expectorante:** El tomillo presenta actividad espasmolítica en las vías respiratorias y ejerce un efecto relajante del músculo liso bronquial que justifica su uso como antitusivo. La acción antiespasmódica se debe al timol y al carvacrol del aceite esencial, que se cree tienen la capacidad de inhibir la disponibilidad del calcio, con lo que podrían bloquear la conducción nerviosa.
- **Actividad antiséptica:** La esencia de tomillo tiene un efecto antiséptico superior al del fenol y al del agua oxigenada. De hecho, en el siglo XIX y primera mitad del XX, cuando todavía no se conocían los antibióticos, el tomillo era considerado como un eficaz desinfectante. Actualmente, está comprobado que sus componentes fenólicos, timol y carvacrol, tienen actividad antibacteriana frente a gérmenes grampositivos y gramnegativos. Este efecto se debe a su acción sobre la membrana bacteriana.
- **Antihelmíntico:** Es especialmente activo frente a *Ankylostoma duodenale*. El timol y carvacrol tiene acción antimicótica, efectiva frente a la *Candida albicans*. Por otra parte, el

extracto acuoso de tomillo inhibe de forma significativa, *in vitro*, el crecimiento del *Helicobacter pylori* y su potente actividad ureasa.

- **Actividad Antiinflamatoria-Analgésica:** En aplicación tópica, el aceite esencial es rubefaciente. Además, especialmente el carvacrol tiene una acción inhibidora de la biosíntesis de prostaglandinas. Ello justifica la inclusión de la esencia de tomillo en linimentos y otros preparados para el tratamiento de dolores musculares y osteoarticulares. El ácido rosmarínico, también tiene acción antiinflamatoria, debido a su capacidad de inhibir la activación del complemento.
- **Actividad Antioxidante:** El ácido rosmarínico, junto a los derivados hidroxicinámicos y compuestos flavonoides como el eriodictiol, demostraron proporcionar una interesante actividad antiinflamatoria *in vitro* inhibiendo la producción de aniones superóxido y la peroxidación lipídica en sistemas microsomales y mitocondriales bajo inducción de hierro. (AGUAY, 2012, págs. 29-36)

1.3.8.3.7 Formas Galénicas

Infusión: Para adultos y niños mayores de dos años 1-2 g planta seca por taza. Se prescriben 3-4 tazas diarias.

Extracto seco: Relación 10:1, administrándose 0,5-1 g diarios, repartidos en 2-3 toma.

Extracto Fluido: (1g =40 gotas), se administran entre 2 y 6 g diarios, repartidos en 2-3 tomas.

Tintura: Relación 1:5, en 45% de alcohol. Se prescribe a razón de 2-6 mL 3 veces al día. También en relación 1:10, en etanol 70%, a razón de 40 gotas 2-3 veces al día.

Uso tópico: La decocción e infusión de 50 g/L para efectuar baños, duchas vaginales, compresas, etc. El timol solo o el aceite esencial son empleadas en cremas, ungüentos y lociones antibacterianos en concentración de 0,1-1%. (AGUAY, 2012)

1.3.9 Gel

1.3.9.1 Definición

Los geles son formas farmacéuticas semisólida que contiene él o los principios activos y aditivos, sólidos en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite de tal manera que se forma una red de partículas atrapadas en la fase líquida. El estado semisólido es debido al aumento de viscosidad causado por entrelazamiento y por la consecuente alta fricción interna. Las sustancias gelificantes absorben agua y se hinchan. La absorción de un líquido por un gel sin un aumento considerable de volumen es conocido como imbibición. La interacción entre las

partículas de la fase dispersa puede ser tan fuerte que al permanecer en reposo el medio de dispersión es empujado fuera del gel en forma de gotas. (OROZCO, 2013, págs. 36-45)

1.3.9.2 Características de un gel

Las características principales que posee un gel son:

- Consistencia semisólida o fluida.
- Su aspecto puede ser transparente o turbio.
- Presentan estructura de tipo continua.
- El pH se encuentra entre 4,5 y 8,5. (OROZCO, 2013, págs. 36-45)

1.3.9.3 Ventajas y Desventajas

Ventajas

- Son bien tolerados
- Fácilmente lavables
- Producen frescor

Desventajas

- Incompatibilidad con numerosos principios activos
- Tendencia a la desecación
- Bajo poder de penetración (indicados para tratamientos superficiales) (OROZCO, 2013)

En el diseño de un gel es indispensable seleccionar la formulación que presente características organolépticas y reológicas idóneas para su administración tópica, es decir, con extensibilidad y textura apropiadas. Es también importante asegurarse de que la preparación sea estéticamente aceptable para el paciente y fácil de usar. (OROZCO, 2013)

- Existen varios factores que se deben tener en cuenta:
- Elección del principio activo adecuado
- Elección de la forma farmacéutica y excipientes idóneos
- Consideración de los efectos dermatológicos del vehículo (OROZCO, 2013)

1.3.9.4 Importancia

- Estado semisólido

- Fácil aplicación (generalmente tópica)
- Alto grado de claridad
- Fácil remoción

Los geles pueden ser usados como lubricantes, analgésicos musculares, electrocardiografía, geles dentales de fluoruros, geles nasales, como excipientes para tratamiento dental, dérmico, y de modo intravaginal entre otros. Acrecientan la adhesividad y así mantienen durante más tiempo en contacto al principio activo con la piel o las mucosas (nasales, vaginales, etc.)

Otra virtud de los geles es que tienen un amplio rango de humectación, por lo tanto su evaporación y la absorción de sus principios activos puede ser ampliamente manipulada.

Los geles se aplican a la piel o a ciertas mucosas para fines protectores, terapéuticos o profilácticos. Los geles a menudo proveen una liberación más rápida de la droga, independiente de la hidrosolubilidad de la droga en comparación con las cremas y pomadas. Si contiene partículas muy grandes se llaman “magmas”. (OROZCO, 2013)

1.3.9.5 Mecanismo de formación de un gel

Estos productos cosméticos se pueden agrupar de la siguiente forma:

- Polímeros que dan lugar a un gel dependiente del pH del medio.
- Polímeros que dan lugar a un gel independiente del pH del medio.

Los primeros dan lugar a soluciones acidas que al neutralizarlas con las bases adecuadas, aumentan la viscosidad y disminuyen la turbidez del medio. El mecanismo por el cual se forma el gel es el siguiente: a bajos valores de pH se disocia una pequeña cantidad de grupos carboxilos del polímero, formando un espiral flexible.

La adición de una base produce la disociación de grupos carboxilos, ionizándose, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas, expandiéndose la molécula, haciendo más rígido el sistema, gelificándolo. Se pasa de una estructura espiralada a una desarrollada o extendida. Los segundos no precisan ser neutralizados para la formación del gel, gelifican por sí mismo, forman puentes de hidrógeno entre el solvente y los grupos carboxílicos del polímero. (OROZCO, 2013)

1.3.9.6 Clasificación de los geles

Podemos clasificar los geles atendiendo a diversos aspectos:

1.3.9.6.1 Dependiendo de su comportamiento frente al agua

- **Geles hidrófilos o hidrogeles:** constituido por agua, glicerina, propilenglicol u otros líquidos hidrofílicos. Gelificados por sustancias de tipo poliméricas, goma tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros carboxílicos o silicatos de aluminio y magnesio.
- **Geles hidrófobos o lipogeles:** llamados también oleogeles. Son geles constituidos por parafina líquida adicionada de polietileno o por aceites grasos gelificados por anhídrido silícico coloidal o por jabones de aluminio y zinc. Estos preparados presentan características muy aceptables de extensibilidad y adherencia a la piel. (OROZCO, 2013)

1.3.9.6.2 Según el número de fases en que están constituidos

- **Geles monofásicos:** el medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua-alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc.
- **Geles bifásicos:** constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente con propiedades de semisólido. Se subdividen en dos grupos
Los TOW gels: Se presentan en forma de un sistema de cristales líquidos, transparentes, y viscosos, su emulsión es de tipo O / W (aceite/agua).
Los TAS gels: son geles transparentes basados en emulsiones de siliconas W / S (agua / silicona). Se consideran como una crema transparente de agua en siliconas, de gran aplicación cosmética. (OROZCO, 2013)

1.3.9.6.3 Clasificación de los geles por su viscosidad

- Geles fluidos
- Geles semisólidos
- Geles sólidos

1.3.9.7 Excipientes

Son sustancias que ayudan a que el principio activo se formule de manera estable, eficaz y, sobre todo segura para el paciente. Estos excipientes se pueden fabricar de varias maneras, pero

la más interesante es atendiendo a la función que realizan dentro del medicamento. Lo más frecuente es que una misma sustancia tenga varias funciones; por ejemplo el etanol ayuda a solubilizar principios activos parcialmente solubles en agua y además es un estupendo conservante. Lo geles, que están formados en su mayoría por excipientes, pueden tener estructura de emulsión, gel o de crema, pero la característica común es que suelen estar compuestas por fases acuosas y fases oleosas, que debido a emulgentes se interponen de manera estable.

La liberación del principio activo depende de la fase predominante, las fases acuosas predominan cuando queremos que el fármaco actúe a nivel externo, es decir las capas superficiales de la piel. Pero si necesitamos que el fármaco penetre bien o que este largo rato actuando, se buscan excipientes grasos, que forman una película oclusiva sobre la piel. (FORMULARY, 1985, págs. 1267-1268)

1.3.9.7.1 Elección del excipiente para la elaboración de gel

- Debe de tener fácil aplicación
- Debe tolerarse bien y debe tener mínimo poder alergénico
- Facilitar la penetración de los principios activos. Acción terapéutica.
- Estabilidad química y microbiológica
- Salvo que el preparado exija otras condiciones, el excipiente debe ser lavable y no manchar la ropa.
- Si el preparado tiene drogas activas insolubles, se debe reducir el tamaño de partícula.
- En algunos casos debe tomarse en cuenta el genotipo del usuario a fin de ser afín al nivel graso de la piel o al nivel de humedad de la misma (FORMULARY, 1985)

1.3.9.7.2 Carbopol 940

El carbopol 940 es un polímero del ácido acrílico, de alto peso molecular. En solución acuosa, hidroalcohólica y con distintos solventes orgánicos (propilenglicol, glicerina, etc.) y neutralizado con hidróxidos alcalinos o con aminas da lugar a un gel transparente, brillante y no graso, que favorece la absorción de los principios activos incorporados. El carbopol en solución acuosa tiene un pH de 2,5 a 3,5 pero la estabilidad y viscosidad del gel es máxima a pH entre 6 y 11, reduciéndose considerablemente a pH menor de 3 o mayor de 12. De igual manera el gel no admite porcentajes mayores del 40% en alcohol de 96°. En función del porcentaje de carbómero se incrementará la consistencia del gel (0,5%-5%). Presenta un estado semisólido, elevado grado de transparencia, facilidad de aplicación y de remoción además de propiedades emolientes y refrescantes. (FORMULARY, 1985)

Sus características lubricantes son adecuadas para su aplicación en piel seca y seborreica, ya que al secarse forma una película transparente no oclusiva, elástica y de alta adherencia, que no obtura los poros cutáneos. El gel de Carbopol 940 tiene propiedades de bioadhesión por esto son utilizados como carriers para distribuir y liberar drogas de aplicación tópica. (FORMULARY, 1985)

Descripción.- Polvo blanco. Fino incoloro.

Viscosidad.- Entre 40.000 y 60.000 centipoises. (FORMULARY, 1985)

1.3.9.7.3 Trietanolamina

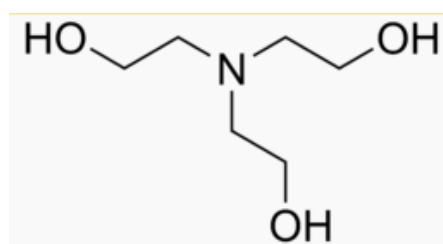


Figura N° 7-2. Estructura de la Trietanolamina

Fuente: FORMULARY, 1985. http://docsetools.com/articulos-utiles/article_103026.html

2,2',2''-Nitrilo-3-Trietanol, Trilamina, Trihidroxitrietilamina, Trietilolamina.

Características: Compuesto orgánico derivado del amoniaco. Líquido higroscópico viscoso, incoloro o ligeramente amarillento, o cristales, de olor característico.

Masa molecular: 149.2.

Punto de ebullición: 335.4°C.

Punto de fusión: 21.6°C.

- Soluble en agua, etanol y cloroformo.
- Base débil.

Usos: regulación del pH, agente alcalinizante para geles. (FORMULARY, 1985)

1.3.9.7.4 Metil parabeno

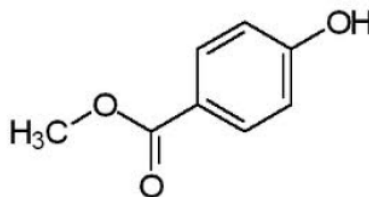


Figura N° 8-1. Estructura del metilparabeno

Fuente: FORMULARY, 1985. http://blinlab.com/ingredientes_prolong_x.html

El metilparabeno es un agente antifúngico (E218) empleado en una variedad de alimentos y de productos de cosmética (generalmente relacionados con el cuidado personal).

Nombre sistemático: Metil parabeno Hidroxibenzoato

Formula química: HO-C₆H₄-CO₂CH₃

Masa molecular: 152g/mol

Punto de fusión: 125-128 °C

Características organolépticas: polvo cristalino blanco.

Solubilidad: soluble en agua, alcohol, éter.

Descripción: Preservante.

Principal uso: se utiliza para preservar los medicamentos en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética. (FORMULARY, 1985)

1.3.9.7.5 Propil parabeno

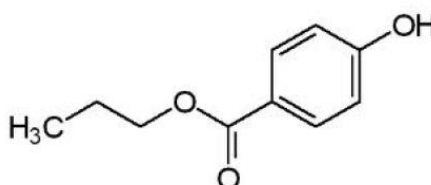


Figura N° 9-1. Estructura del propilparabeno

Fuente: http://blinlab.com/ingredientes_prolong_x.html

Es un sólido cristalino de color blanco. Se usa como conservador para cosméticos (es el segundo producto de este tipo más utilizado)

Formula química: HO-C₆H₄-CO₂C₃H₇

Masa molecular: 180g/mol

Punto de fusión: 95-98 °C

Características organolépticas: polvo cristalino blanco.

Descripción: Perservante, antimicrobiano.

Principal uso: se utiliza para preservar los medicamentos en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética.

Características: el propil parabeno es más eficaz que el metil parabeno en base a los ppm que se utilizan, para inhibir el crecimiento de las bacterias se necesitan hasta 1.000 ppm del propil parabeno y de 1.000 a 4.000 de metil parabeno. Las bacterias Gram (+) son más sensibles que las bacterias Gram (-). (FORMULARY, 1985)

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Lugar de investigación

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio Histopatológico de SOLCA (Sociedad de Lucha contra el Cáncer-Riobamba)
- Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque Andrade.

2.2 Materiales, Equipos y Reactivos

2.2.1 Materiales equipos y reactivos para el estudio Fitoquímico y Control de Calidad de la Droga seca y Extracto alcohólico de la Materia prima.

2.2.2.1 Material Vegetal

Vegetales

- GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), la materia prima fue obtenida en el mes de Noviembre del 2014 en el vivero de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH, en el Cantón Riobamba, en la provincia de Chimborazo. La parte utilizada es la vaina de los frutos.
- NOGAL (*Juglans regia*), fue obtenida en el mes de Noviembre del 2014 en el Cantón Píllaro, en la provincia de Tungurahua. De esta planta se utilizó la corteza de los tallos.
- TOMILLO (*Thymus vulgaris*), la materia prima fue obtenida en el mes de Noviembre del 2014 en Jambi Kiwa, en la parroquia de Yaruquies del cantón Riobamba, en la provincia de Chimborazo. La parte utilizada son los tallos y las hojas.

2.2.2.2 Materiales de Laboratorio

- Vasos de precipitación
- Trípode
- Termómetro
- Crisol
- Picnómetro
- Pistilo y mortero
- Embudo simple
- Papel filtro
- Reverbero
- Varilla de agitación
- Pipetas Volumétricas
- Cápsulas de porcelana
- Matraces
- Probetas
- Kitasato
- Embudo simple
- Embudo de separación
- Balones aforados
- Papel aluminio
- Aspersor (atomizador)
- Cámara cromatográfica
- Cuba cromatográfica
- Placas de sílica gel
- Equipo de destilación
- Equipo de reflujo
- Equipo de Percolación
- Vidrio Reloj
- Tubos de ensayo
- Gradilla

2.2.1.3 Equipos

- Balanza analítica (BOECO)
- Desecador

- Estufa (MEMMERT)
- Mufla (OPTIC IVYMEN SYSTEM)
- Espectrofotómetro (HELYOS β)
- Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
- pH – metro (HANNA INSTRUMENT)
- Refractómetro (BAUSC Y LOMS)
- Bomba de vacío
- Cabina extractora de gases (MEMMRT)
- Viscosímetro (SELECTA)
- Cámara fotográfica (SONY)
- Celular (SONY)
- Computadora (SAMSUNG)
- Refrigeradora (DUREX)

2.2.1.3 Reactivos

- Agua destilada
- Alcohol potable (etanol 96%)
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Lieberman-Buchard
- Reactivo de Borntrager
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Sudan III
- Solución de Cloruro Férrico al 5%
- Solución de Ninhidrina al 5%
- Solución de Fehling A y B
- Cloroformo
- Hidróxido de Sodio al 10%
- Solución de Sulfato de Cerio
- Ácido clorhídrico al 1%
- Ácido clorhídrico concentrado
- Granallas de Magnesio Metálico
- Acetato de Etilo
- Metanol
- Agua
- Ácido Sulfúrico concentrado

- Tolueno
- Vainillina

2.2.2 Materiales, Equipos y Reactivos para la elaboración y Control de Calidad de gel.

2.2.2.1 Materiales

- Vasos de precipitación.
- Reverbero
- Termómetro
- Probeta
- Varilla agitadora
- Espátula
- Envases para el gel
- Etiquetas

2.2.2.2 Equipos

- Balanza analítica (BOECO)
- pH – metro (HANNA INSTRUMENT)
- Espectrofotómetro (HELYOS β)
- Viscosímetro (SELECTA)

2.2.2.3 Reactivos

- Carbopol 940
- Trietanolamina (TEA)
- Metilparabeno (MPB)
- Propilparabeno (PPB)
- Extractos de Guarango, Nogal y Tomillo.
- Agua destilada

2.2.3 Materiales y Reactivos para comprobar la Actividad Cicatrizante.

2.2.3.1 Materiales

- Equipo de disección

- Gasas
- Algodón
- Guantes gorro y mascarillas
- Cotonetes
- Reverbero
- Vaso de precipitación
- Regla.

2.2.3.2 Equipos

- Balanza

2.2.3.3 Reactivo biológico

Lote de 15 Ratones (*Mus musculus*) de 2-3 meses de edad con un peso promedio entre 30-40 g, provenientes del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.3.4 Reactivos

1. Gel elaborado a base de los extractos alcohólicos de Guarango, Nogal y Tomillo a diferentes dosis.
2. Veet crema depilatoria corporal.
3. Lamoderm (Acetato de predisolona 0.5g, Sulfato de neomicina 0.5g)
4. Formol al 10%
5. Agua destilada
6. Alcohol antiséptico
7. Gel desinfectante

2.3 Técnicas y métodos

2.3.1 Determinación de los Parámetros de Calidad de la Droga vegetal

2.3.1.1 Método Físico-Químico de Análisis

Para el control de calidad de la especie vegetal se realiza las siguientes pruebas:

- Determinación de Humedad

- Determinación de Cenizas Totales
- Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico
- Determinación de Cenizas Solubles en Agua

2.3.1.1.1 Determinación del contenido de humedad

Procedimiento: De la especie vegetal se pesa 2 g con desviación permisible de 0,5 mg y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105°C durante 3 horas. La cápsula se coloca en el desecador, donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

FORMULA Nº 1.

- % H = pérdida en peso por desecación (%).
- M2 = masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g).
- M1 = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g).
- M = masa de la cápsula vacía.
- 100 = factor matemático.

2.3.1.1.2 Determinación de cenizas totales

Procedimiento: Se determina la masa de no menos de 2.0g ni más de 3.0g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0.5mg en un crisol de porcelana o platino (en dependencia de la sustancia analizada) previamente tarado. Caliente suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinere en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante 2 horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5mg por g (masa constante). Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y

se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

Expresión de los resultados:

$$\%C_T = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

FORMULA Nº 2.

- $\%C_T$ = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.
- M = masa del crisol vacío (g).
- M_1 = masa del crisol con la porción de ensayo (g).
- M_2 = masa del crisol con la ceniza (g).
- 100 = factor matemático para los cálculos.

2.3.1.1.3 Determinación de cenizas solubles en agua

Procedimiento: A las cenizas totales obtenidas en A, se le añaden de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5min. La solución se filtra a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700-750 °C, durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados:

$$\%C_A = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} * 100$$

FORMULA Nº 3.

- $\%C_A$ = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.
- M_2 = masa del crisol con las cenizas totales (g).
- M_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g).
- M_1 = masa del crisol con la muestra de ensayo (g).
- M = masa del crisol vacío.
- 100 = factor matemático.

2.3.1.1.4 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Procedimiento: A las cenizas totales obtenidas según la técnica, se le añaden de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviendo durante 10min. Se lava el vidrio reloj con 5mL de agua caliente y se une al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico p.a.; al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1mol/L, no muestre presencia de cloruros. El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 ° C, se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750 ° C durante 2 h (si no se señala otra temperatura en la norma específica). Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$\%CI = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} * 100$$

FORMULA Nº 4

- %CI= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.
- M1= masa del crisol con la porción de ensayos (g).
- M = masa del crisol vacío (g).
- M2= masa del crisol con las cenizas ácido clorhídrico (g).
- 100= factor matemático

2.3.2 Parámetros de Calidad Químico-cualitativo (TAMIZAJE FITOQUÍMICO)

La planta fresca, seca o el residuo de una extracción; es sometida a una extracción sucesiva según el esquema de la Figura. 9-3, al extracto se le mide el volumen obtenido y se le calcula su concentración, esto es, gramos de sustancias extraídas por mL de extracto.



Figura Nº 10-2. Extracción sucesiva del material para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico

FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

Al extracto alcohólico se procede de la siguiente manera ilustrada en la figura.

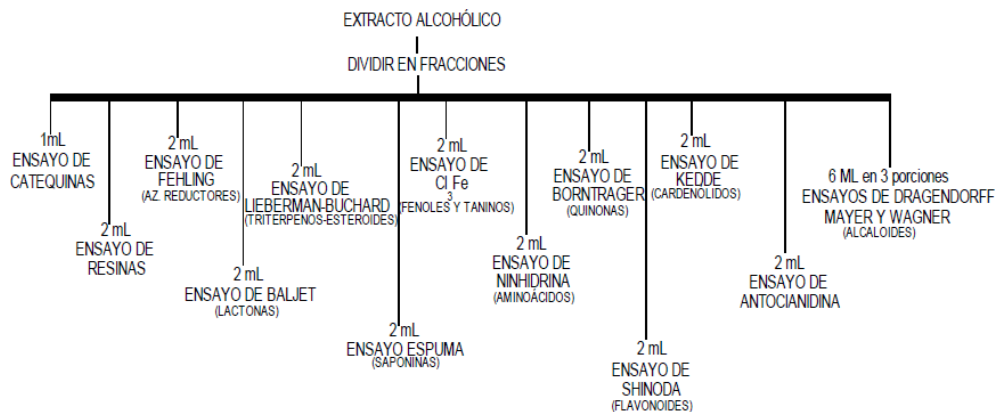


Figura 11-2. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico.

FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

El extracto alcohólico, es dividido en 12 fracciones, una de 1mL para el ensayo de Catequinas, las otras 10 fracciones con un volumen de 2 mL cada una, para ensayo de: Resinas, Fehling, Baljet, Lieberman-Buchard, Espuma, Cloruro Férrico, Borntrager, Shinoda, y Antocianidina y finalmente 6 ml dividida en 3 porciones con un volumen de 2mL cada una para los ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner.

Tabla N° 3-2. Técnicas del Tamizaje Fitoquímico

ENSAYO	METABOLITO	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
Sudan	Compuestos grasos	Se le añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente.	(+) Presencia de gotas o una película coloreada de rojo
Dragendorff	Alcaloides	Si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse, en un baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo.	(+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado.
Wagner	Alcaloides	Se parte de igual manera en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 o 3 gotas del reactivo	(+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado.
Baljet	Compuestos con agrupamiento lactónico	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1mL). En estas condiciones se adiciona 1mL de reactivo	(++) Aparición de una coloración (+++) Precipitado rojo
Borntrager	Quinonas	Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación	Si la fase acuosa alcalina se colorea: (++) Coloración rosada (+++) Coloración roja.
Lieberman-Buchard	Triterpenos y/o Esteroides	Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.	1. Rosado 2. Verde intenso – visible 3. Verde oscuro – negro
Catequinas	Catequinas	Tome una gota de la fracción alcohólica, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio.	Verde carmelita a la luz UV
Resinas	Resinas	Adicione a 2mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada	Precipitado
Fehling	Azúcares reductores	Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo	Solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo

		redisolverse en 1 – 2 mL de agua. Se adicionan 2mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5 – 10 min la mezcla.	
Espuma	Saponinas	Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 – 10 min.	Si aparece espuma en la superficie del líquido
Cloruro Férrico (FeCl ₃)	Compuestos Fenólicos y/o taninos	Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica A una alícuota del extracto alcohólico se adiciona el reactivo	Coloración rojo – vino, verde intensa, azul
Shinoda	Flavonoides	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico, se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen	Cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.
Antocianidinas	Estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides	Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases.	La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica
Mucílagos	Estructura tipo polisacárido	Una alícuota del extracto en agua se enfría a 0 - 5 C	Consistencia gelatinosa
Principios Amargos		Saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal reconociendo el sabor de cada uno de los principios, bien diferenciado por el paladar	

Realizado por: CHARCO, Jhony. 2015

FUENTE: MIRANDA, M. 2002

2.3.3 Obtención de los extractos

2.3.3.1 Elaboración de los Extractos Fluidos

Las principales técnicas extractivas son: maceración, lixiviación o percolación, digestión, infusión, destilación y extracción continua.

En esta investigación el método utilizado para realizar el extracto de Guarango (*Caesalpinia spinosa*), Nogal (*Juglans regia*) y Tomillo (*Thymus vulgaris*), fue por percolación.

2.3.3.1.1 Método por Percolación:

- Se parte de 100 g de droga cruda pulverizada, la cual se coloca en un recipiente amplio y cerrado y se humedece con 120 mL de alcohol potable para que este penetre la estructura celular y disuelva las sustancias. Se deja reposar de 15 min. a 4 h en dependencia de la dureza y característica de la droga cruda.
- La superficie se cubre con papel o placa de filtro o un disco metálico con orificio y se presiona.
- Para garantizar que no queden burbujas de aire en la masa vegetal, se vierte alcohol con el orificio de salida del percolador abierto y cuando este comienza a salir se cierra el mismo. Se sigue vertiendo alcohol hasta que este cubra la masa vegetal y quede de 3-5 cm por encima de ella. Se macera durante 24h.
- Abrir el orificio de salida, dejar salir el percolado a la vez que se añade más alcohol, estableciéndose un flujo de 25-30 gotas/min., hasta obtener la primera fracción del 30% del extracto, lo que se guarda en un recipiente ámbar y llevarlo a refrigeración.
- Recoger el todo el filtrado en un envase ámbar, se refrigera para decantar las clorofilas, filtrar y envasar en recipientes de vidrio color ámbar.

2.3.3.1.2 Concentración del extracto alcohólico

- Concentrar en el rotavapor el segundo extracto recogido que fue aproximadamente de 400 mL hasta obtener un volumen de 70 mL.
- Unir el extracto concentrado más el primer extracto recogido de la percolación.
- El volumen obtenido fue de 100 mL de extracto alcohólico a partir de 100 mL de droga cruda.
- Finalmente se filtra el extracto alcohólico para eliminar las impurezas.

2.3.4 Control de Calidad de los Extractos

2.3.4.1 Determinación de los requisitos organolépticos

Para esta prueba se tomó una alícuota de 25ml del extracto y se lo puso en el vaso de precipitación de 50 ml para determinar el análisis sensorial de: color olor, sabor aspecto turbidez.

2.3.4.1.1 Determinación del olor

Se toma una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto.

2.3.4.1.2 Determinación del color

Se toma un tubo de ensayos bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas. Se informa los resultados.

2.3.4.1.3 Determinación del sabor

Se coloca una pequeña cantidad de muestra en el borde de la palma de la mano o en el dedo índice e inmediatamente al contacto con la punta de la lengua se realiza la identificación de su sabor.

2.3.4.2 Determinación del pH.

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

2.3.4.3 Determinación de la densidad relativa

Primeramente pésele el picnómetro vacío y secos 2 °C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 min y ajústesele el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro. Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpiar el picnómetro.

Expresión de los resultados:

La densidad relativa a 25 °C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} * 100$$

FÓRMULA Nº 5.

- M1 = peso del picnómetro con la muestra (g).
- M2 = peso del picnómetro con el agua (g).
- M = peso el picnómetro vacío (g)

2.3.4.4 Determinación del índice de refracción

Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$n = \frac{\text{Sen } i}{\text{Sen } r}$$

FÓRMULA Nº 6.

Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada. Utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionado la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.

Expresión de los resultados:

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002. Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$N_{d25} = N_{dt} + 0.00044 (t - 25)$$

FÓRMULA Nº 7.

- N_{d25} = índice de refracción a 25 °C.
- N_{dt} = Valor leído en la escala del aparato a la temperatura.
- T = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C).
- 0.00044 = factor de correlación por Grados Celsius.

Los valores se aproximan hasta las milésimas.

2.3.4.5 Determinación de Sólidos totales

La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales. 5.0 mL del extracto se llevan a una cápsula previamente tarada a 105 °C, se evapora sobre baño de agua hasta que el residuo esté aparentemente seco. Se pasa entonces hacia una estufa y se deja hasta peso constante (aproximadamente 3 horas).

Se retira la cápsula de la estufa y se coloca, en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente. Para obtener la masa constante entre una pesada y otra se mantendrá un tiempo de secado de 60 minutos.

Expresión de los resultados:

La cantidad de sólidos totales, expresado en %, R, se calcula por la siguiente fórmula:

$$\eta_{St} = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

FÓRMULA Nº 8.

- Pr = masa de la cápsula más el residuo (g).
- P = masa de la cápsula vacía (g).
- V = volumen de la porción de ensayo.
- 100 = factor matemático para el cálculo.

2.3.5 Cromatografía en capa fina

- Una vez concentrado los extractos se debe aplicar 10uL del concentrado en una placa cromatográfica de sílica gel 60 F254 con la ayuda de un capilar. (dejar secar después de cada aplicación).
- Se introduce la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente corra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Retirar de la cuba, dejar secar y observar en la lámpara UV 365nm.
- Revelar la placa, dejar secar, y anotar el Rf.

Absorbente: Sílica gel 60 F254

Sistema de solventes: tolueno: acetato de etilo: ácido acético.

Proporción: (36:12:5)

Revelador: sulfato de cerio

Se utiliza este sistema de solvente y este revelador para determinar flavonoides, se emplea la siguiente formula

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

FÓRMULA Nº 9.

2.3.5.1 Cuantificación de Flavonoides

Análisis espectrofotométrico del marcador químico flavonoides totales expresados como porcentaje de Quercetina.

Para el caso de droga cruda

- Se pesa 1g de muestra y colocamos en un balón de 250mL.
- Anadir 20 mL de etanol al 50% y 8 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- Reflujar por dos horas en baño de agua.
- Dejar enfriar y filtrar a través de filtro Buchner, utilizando papel filtro.
- Lavar el residuo con 10 mL de etanol al 50% para desecharlo finalmente.
- El filtrado se evapora en baño de agua hasta la mitad del volumen inicial.
- Enfriar sobre baño de agua fría durante 30 minutos.
- Filtrar, el papel con los residuos se lava con 70 mL de etanol al 96% caliente a 50 °C.
- Se trasvasa a un balón volumétrico de 100 mL y se afora con etanol al 96%.
- Se toma una alícuota de 2 ml y llevar a un balón de 25ml y se afora con etanol al 96%.
- Determinar la absorbancia a 258 nm.

2.3.6 Determinación de los tipos de excipientes y las cantidades adecuadas de extracto para preparación del gel cicatrizante.

Para la preparación de un lote de 100 gramos de gel cicatrizante al 30 % partimos de la siguiente fórmula:

Tabla 4-2. FORMULACIÓN DEL GEL CICATRIZANTE DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*) AL 30%.

COMPONENTES	CANTIDADES (%)
Extracto fluido (Guarango, Nogal y Tomillo)	30
Carbopol 940	2.0
TEA	1.8
Siliconado facial – base de glicerina	2.0
Agua	64
Metilparabeno	0.18
Propilparabeno	0.02

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Se realizaron tres combinaciones del porcentaje de los extractos de guarango, nogal y tomillo de la siguiente manera:

TABLA 5-2. DOSIS DE LAS FORMULACIONES DEL GEL CICATRIZANTE DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*) AL 30%.

	GUARANGO (CANTIDAD EN %)	NOGAL (CANTIDAD EN %)	TOMILLO (CANTIDAD EN %)
FORMULACIÓN 1	20 %	5%	5%
FORMULACIÓN 2	15%	10%	5%
FORMULACIÓN 3	10%	10%	10%

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

2.3.7.1 Proceso de Preparación del Gel

- Dispersar el carbopol 940 en una determinada cantidad de agua destilada y agitar por 30 minutos en intervalos de 10 minutos hasta que se forme la base gelificante, dejar reposar por 24h
- Adicionar Metilparabeno, Propilparabeno y Siliconado facial – base de glicerina con agitación constante.
- Añadir TEA con movimiento lento procurando no incorporar burbujas de aire hasta que adquiera características de gel o pH 6.5.
- Finalmente se incorpora la mezcla de extractos (molle, cola de caballo y linaza) agitar hasta que la mezcla este uniforme, envasar y etiquetar.

2.3.7.2 Control de Calidad del Producto Terminado

a) Determinación del olor del gel

Con una tira de papel secante se introdujo en un extremo en la muestra de ensayo y se apercibió y se determinó la característica de olor que presento el producto.

b) Determinación del color del gel

En un tubo de ensayo limpio y seco se llenó con la muestra hasta las tres cuartas partes del mismo y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas.

c) Determinación de la presencia de grumos del gel

Se tomó una pequeña cantidad del gel con los dedos y se aplicó suavemente en el dorso de la mano y se observó si hay presencia o ausencia de grumos.

d) Determinación de untuosidad al tacto del gel

Se tomó una pequeña cantidad del gel con los dedos y se aplicó suavemente en el dorso de la mano y se observó si hay presencia o ausencia de grasa por parte del gel. Lo que se busca con la untuosidad si es lipofílica o hidrofílica.

e) Determinación de la extensibilidad de un gel

Se pesó 0.2 a 0.02g de muestra a 25 °C se presiona entre dos superficies de vidrio sobre las cuales se adiciona una pesa de 100g durante 1 minuto. El área originada es la variable respuesta.

f) Determinación del pH

Se mide en el medidor del pH previamente calibrado con soluciones tampón de pH 4 y 7. Sacar el electrodo del tampón lavar con agua destilada y secar con papel filtro. En otro caso se coloca la muestra (gel) e introducir el electrodo limpio homogenizar y determinar el pH.

g) Determinación de la viscosidad

Se tomó una muestra representativa (aproximadamente 50 ml) del producto terminado y se introduce el viscosímetro y se tomó lectura de la señal indicada en el viscosímetro.

2.3.7.3 Análisis Microbiológico

El análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio SAQMIC “Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos en Aguas y Alimentos”. Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes, Contactos: 0998580374- 032942322. Riobamba-Ecuador.

2.3.8 Actividad Cicatrizante

3.3.8.1 Ensayo de la Actividad Cicatrizante del gel elaborado a base de los extractos de guarango (Caesalpinia spinosa), nogal (Juglans regia) y tomillo (Thymus vulgaris).

2.3.8.1.1 Animales de experimentación

Para llevar a cabo esta investigación se empleó un lote de 15 ratones albinos (*Mus musculus*), entre machos y hembras de 2 a 3 meses de edad con un peso promedio de 30-40 g de peso provenientes del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, agrupadas en cinco lotes de 3 animales con peso similar.

2.3.8.1.2 Aclimatación, ambientación o acondicionamiento.

Los animales, fueron acondicionados individualmente en cajas plásticas de polipropileno y mantenidos en condiciones ambientales controladas (temperatura $20,6 \pm 1,8^{\circ}\text{C}$, humedad relativa $59,8 \pm 5,2\%$ y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), por un período de adaptación de 15 días. Alimentados en horas de la mañana con 1.5 g/10 g de peso del animal con balanceado y agua clorada.

Se utilizó un lote de 15 ratones divididos en 5 grupos de 3 cada uno, 3 para el control negativo, 3 para el control positivo con Lamoderm, 3 para la Formulación 1 (20% Guarango, 5% Nogal, 5% Tomillo), 3 para la Formulación 2 (15% Guarango, 10% Nogal, 5% Tomillo) y 3 para la Formulación 3 (10% Guarango, 10% Nogal, 10% Tomillo).

2.3.8.1.3 Depilación

Después de los 15 días de aclimatación los ratones al lugar de trabajo, se procederá a depilarlos en el primer tercio dorsal anterior (dorso del animal) de cada ratón, con agua tibia y crema depilatoria corporal Veet, en una área aproximada de 2 cm².

2.3.8.1.4 Incisión/Inducción de la herida

Después de las 24 horas, al no observarse irritación en la piel, se procede a aplicar por vía tópica La Roxicaína atomizador al 10% (Lidocaína base), el cual es utilizado como un anestésico local, antiarrítmico, mismo que servirá para anestesiarlo y poder realizar las heridas de 2 cm de longitud y 2 mm de profundidad, con la ayuda de un bisturí.

2.3.8.1.5 Administración del Tratamiento

Posteriormente transcurrido 4 horas después de haber realizado las incisiones, se administró por vía tópica:

- Al grupo A control negativo, ratón con herida, no se le administró ningún tratamiento y se los mantuvo en condiciones normales de agua y comida.
- Al grupo B control positivo, se le administró por vía tópica 0.5 g de crema cicatrizante Lamoderm.
- Al grupo C se le administró por vía tópica aproximadamente 0.5 g de gel de la formulación 1 en una concentración de (20% Guarango, 5% Nogal, 5% Tomillo).
- Al grupo D se le administró por vía tópica aproximadamente 0.5 g de gel de la formulación 2 en una concentración de (15% Guarango, 10% Nogal, 5% Tomillo).
- Al grupo E se le administró por vía tópica aproximadamente 0.5 g de gel de la formulación 3 en una concentración de (10% Guarango, 10% Nogal, 10% Tomillo).

Respectivamente a cada lote, se administraron los tratamientos dos veces al día (mañana/tarde) durante el tiempo requerido.

2.3.8.1.6 Examen Anatomopatológico

Al culminar el ensayo los ratones fueron sacrificados por el método de eutanasia por dislocación cervical. Inmediato a la muerte de los ratones se procedió a realizar la extracción de la piel,

seccionando un área aproximada de 2 cm de ancho x 2,5 cm de largo, la misma que contenía las muestras de tejido con la herida cicatrizada.

Posteriormente se colocaron las pieles en envases que contenían formol diluido al 10% debidamente etiquetada para su correspondiente examen histopatológico.

2.3.8.1.7 Examen Histopatológico

Se realizaron los cortes histológicos de la piel de cada lote, luego se prepararon las placas y por último se realizó la observación microscópica para determinar la regeneración celular.

2.3.9 Esquema del Diseño Experimental

Tabla N° 6-2. Evaluación del proceso de cicatrización en cada grupo experimental mediante la aplicación de cada uno de los Tratamientos

TIPO DE TRATAMIENTO					
GRUPOS	CONTROL (-) GRUPO A	CONTROL (+) GRUPO B	FORMULACIÓN 1 GRUPO C	FORMULACIÓN 2 GRUPO D	FORMULACIÓN 3 GRUPO E
	A1	B1	C1	D1	E1
	A2	B2	C2	D2	E2
	A3	B3	C3	D3	E3

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

- **G**= Grupos
- **A**= Ratones heridos sin tratamiento (Control (-))
- **B**= Ratones heridos tratados con Lamoderm (Control (+))
- **C**= Ratones heridos tratados con gel (formulación # 1)
- **D**= Ratones heridos tratados con gel (formulación # 2)
- **E**= Ratones heridos tratados con gel (formulación # 3)

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se expondrán los resultados obtenidos de las pruebas de control de calidad de la planta cruda, extractos y producto terminado, así como las pruebas de evaluación de la actividad cicatrizante del gel de guarango, nogal y tomillo.

3.1 Análisis, Interpretación y Discusión de resultados

3.1.1 Control de Calidad de la Droga cruda vegetal

Se realizó el control de calidad de la droga cruda vegetal, control necesario para garantizar la calidad de la misma, y determinar a través de los requerimientos la aceptación o rechazo de la misma para su uso.

El control de calidad se inicia con las especies vegetales utilizadas como materia prima para la elaboración del gel cicatrizante, estas son:

- Guarango (*Caesalpinia spinosa*)
- Nogal (*Juglans regia*)
- Tomillo (*Thymus vulgaris*)

3.1.1.1 Análisis Físico–Químico

3.1.1.1.1 Determinación del contenido de humedad

Cuadro N° 1-3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

	GUARANGO	NOGAL	TOMILLO	LIMITES
PORCENTAJE DE HUMEDAD	9.74 %	13.79 %	6.54 %	ESPECIFICACIÓN USP 8 - 14%
	10.06 %	13.53 %	/.02%	
	9.23 %	12.33 %	6.93 %	
	X = 9.676 %	X = 13.21 %	X= 6.83 %	

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

Los resultados expresados en el CUADRO N°1-3. Nos muestran el porcentaje de humedad presentes en cada una de las tres drogas vegetales analizadas. En el caso del guarango el porcentaje de humedad es de 9.67%, el nogal con 13.21% y el tomillo con un 6.83%, dichos resultados porcentuales se encuentran dentro del rango límite establecido como especificación por la USP#28, siendo estos porcentajes un indicativo de que las condiciones de conservación y almacenamiento fueron las adecuadas para nuestro estudio; ya que el porcentaje de humedad nos muestra la cantidad de agua libre presente en el vegetal y su estabilidad para evitar la hidrólisis bacteriana y proliferación bacteriana.

3.1.1.2 Determinación de cenizas totales

Cuadro N° 2-3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

	GUARANGO	NOGAL	TOMILLO	LIMITES
PORCENTAJE DE CENIZAS TOTALES	4.23 %	7.03 %	8.02 %	Máximo 12% USP
	3.33 %	6.88 %	8.06 %	Max. 20%
	3.26 %	6.33%	8.0 %	FARMACOPEA
	X = 3.606 %	X = 6.746 %	X= 8.02 %	

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

En el cuadro N° 2-3. Se observa que los resultados porcentuales (guarango 3.60%, nogal 6.74% y tomillo 8.02%) obtenidos para nuestras 3 especies vegetales se encuentran dentro del límite establecido por la USP #28 y la FARMACOPEA USA que son de 12% y 20% respectivamente, siendo un indicativo de que las muestras son aceptadas para nuestro estudio ya que se encuentran libres de contaminación con otros minerales, sílice o metales pesados e incluso contaminación con la misma tierra. Debido a que el porcentaje de cenizas totales es el resultado del contenido total de minerales presente en la droga vegetal.

3.1.1.3 Determinación de cenizas solubles en agua

Cuadro N° 3-3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA, EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

	GUARANGO	NOGAL	TOMILLO	LIMITES
PORCENTAJE DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	3.11 %	2.03 %	0.8 %	Máximo 7%
	2.96 %	2.06 %	1.1 %	
	3.23 %	1.79 %	1.0 %	
	X = 3.1 %	X = 1.96 %	X = 0.96 %	

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

El porcentaje de cenizas solubles en agua nos indica el contenido total de cenizas disueltas en agua destilada bajo condiciones específicas, mostrándonos que corresponde al material tipo orgánico. En el cuadro N° 3-3. Se pueden observar que los resultados para el porcentaje de cenizas solubles en agua en el caso del guarango 3.1 %, en el nogal 1.96% y en el tomillo 0.96%, estas tres especies vegetales se encuentran dentro de los límites establecidos por la USP # 28 para drogas vegetales, en el que nos indica que el límite máximo es de 7%.

3.1.1.4 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Cuadro N° 4-3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO, EN DROGA VEGETAL SECA Y MOLIDA DE LAS PLANTAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

	GUARANGO	NOGAL	TOMILLO	LIMITES
PORCENTAJE DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO	1.01 %	0.11 %	0.66 %	Máximo 5%
	1.02 %	0.11 %	0.84 %	
	1.3 %	0.09 %	0.96 %	
	X = 1.11 %	X = 0.103 %	X = 0.82 %	

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

El porcentaje de cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico es un indicativo que en la especie vegetal se encuentre material inorgánico extraño es decir contaminada por la presencia de

productos térreos como la arena o tierra silíceas. En el CUADRO N° 4-3 se puede apreciar los resultados obtenidos para el porcentaje de cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico, indicándonos que los valores se encuentran dentro del rango de aceptabilidad (guarango 1.11%, nogal 0.103% y tomillo 0.82 %) en el que el límite máximo es de 5 % como lo establece la USP #28 para drogas vegetales.

3.2. Control de Calidad del Extracto fluido

3.2.1 Determinación de los parámetros de calidad de los Extractos fluidos de guarango, nogal y tomillo

3.2.1.1 Descripción organoléptica

Cuadro N° 5-3. DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

PARAMETROS	GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>)	NOGAL (<i>Juglans regia</i>)	TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>)
ASPECTO	Líquido Viscoso gelatinoso	Líquido (Turbio)	Líquido (Ligeramente turbio)
COLOR	Amarillo caramelo	Café oscuro	Verde claro
OLOR	No presenta mucho olor, ligeramente dulce	Característico, fuertemente aromático	Característico, fuertemente aromático
SABOR	Amargo	Amargo picante	Insaboro con un final metálico

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

Para los parámetros analizados dentro del CUADRO 5-3 como son el caso del aspecto, color, olor y sabor no existen estándares de referencia que nos permitan comparar o establecer diferencias con referencias bibliográficas; únicamente se utilizan los sentidos propios del ser humano para determinar las características organolépticas propias de cada especie vegetal, tal y como se evidencia en el cuadro de resultados en el que cada una de las especies vegetales

(guarango nogal y tomillo) presentan características diferentes y únicas que las distinguen una de otra.

3.2.2 Determinación de los Parámetros Físicos de los Extractos fluidos de guarango, nogal y tomillo

Cuadro N° 6-3. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

PARAMETROS	GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>)	NOGAL (<i>Juglans regia</i>)	TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>)
pH	6.07	5.54	5.40
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.334	1.376	1.380
DENSIDAD RELATIVA (g/mL)	0.996	0.897	0.903
SÓLIDOS TOTALES (%)	6.30	6.90	5.30

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

En el cuadro N° 6-3 se pueden observar los distintos parámetros físicos para establecer la calidad de nuestras tres especies vegetales, dichos parámetros son: pH, índice de refracción, densidad relativa y sólidos totales.

- pH: El pH expresa la concentración de iones hidronio [H₃O⁺] presentes en determinadas sustancias. Los datos obtenidos en el caso del guarango es de 6.07, en el nogal 5.54 y en el tomillo 5.40, son un indicativo de que estos valores tienden más hacia la acidez, lo cual es favorable en nuestro caso para la elaboración de una forma farmacéutica de uso tópico (gel cicatrizante), ya que el pH de la piel es de 5.5 y al aplicar un producto con un pH menor o mayor podría causarnos irritación o quemadura, esto nos indica que nuestros extractos fluidos no poseen ningún tipo de riesgo por el contrario poseen una alta compatibilidad.
- Índice de refracción: Es una medida que determina la reducción de la velocidad de la luz al propagarse por un medio homogéneo. (ALONSO, 2004). Siendo un valor útil para

establecer la cantidad de sólidos totales que desvían el haz de luz que pasa por la muestra, en el caso del guarango es de 1.334, el nogal 1.376 y el tomillo 1.380.

- **Densidad Relativa:** Los valores obtenidos para la densidad relativa son de 0.996 g/mL para el guarango, 0.897 g/mL para el nogal y 0.903 g/mL para el tomillo, dichos valores al comparar con la densidad relativa del solvente que utilizamos para la preparación de los extractos, que en este caso es el etanol (0.789 g/mL) se puede observar que es mayor ya que en los extractos existen sustancias en disolución.
- **Sólidos Totales:** La determinación de sólidos totales nos permiten estimar los contenidos de materias disueltas y suspendidas presentes en nuestros extractos por lo tanto miden el total de residuos sólidos filtrables (sales y residuos orgánicos). Los valores obtenidos son: guarango 6.30%, nogal 6.90 y tomillo 5.30%, indicándonos la presencia de sustancias en el extracto fluído.

3.2.3 Análisis Físico Químico Cualitativo

3.2.3.1 Tamizaje Fitoquímico

REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN

Cuadro N° 7-3. REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN PARA DETERMINAR GRUPOS FITOQUÍMICOS DEL EXTRACTO FLUIDO DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

TIPO DE COMPUESTO/ ENSAYO		RESULTADOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO	
		GUARANGO (<i>Caesalpinia spinosa</i>)	OBSERVACIONES
ALCALOIDES	Dragendorff	(+++)	Precipitado anaranjado rojizo
	Wagner	(+)	-
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Lieberman-Buchard	(-)	No presenta Reacción
QUINONAS	Borntrager	(++)	Rosado
CUMARINAS	Baljet	(+++)	Rojo (con precipitado)
COMPUESTOS GRASOS	Sudan III	(++)	Ligero cambio
SAPONINAS	Espuma	(-)	No presenta reacción
COMPUESTOS FENÓLICOS Y/O TANINOS	Cloruro Férrico	(+++)	Azul marino
FLAVONOIDES	Shinoda	(+++)	Rojo anaranjado (ladrillo)
ANTOCIANIDINAS	Antocianidinas	(+)	Rojo
AZUCARES REDUCTORES	Fehling	(++)	-
MUSCÍLAGOS		(+++)	-

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Interpretación de la tabla:

- (-) No presencia del Metabolito (Negativo)
- (+) Baja evidencia
- (++) Evidencia
- (+++) Alta evidencia

En el Cuadro N° 7-3 se puede observar los resultados de los principales grupos Fitoquímicos o metabolitos secundarios investigados en las vainas del guarango (*Juglans regia*), determinado en el extracto alcohólico; arrojando los siguientes resultados como positivos:

Alcaloides, cumarinas, compuestos grasos, Compuestos fenólicos y/o Taninos, flavonoides. Antocianidinas, azúcares reductores, mucílagos; resultados que coinciden con los reportados en la literatura según Alonso, J. 2004. (ALONSO, 2004)

Cuadro N° 8-3. REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN PARA DETERMINAR GRUPOS FITOQUÍMICOS DEL EXTRACTO FLUIDO DE NOGAL (*Juglans regia*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

TIPO DE COMPUESTO/ ENSAYO		RESULTADOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO	
		NOGAL (<i>Juglans regia</i>)	OBSERVACIONES
ALCALOIDES	Dragendorff	(-)	No presenta reacción
	Wagner	(-)	Mínimo cambio
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Lieberman- Buchard	(+)	Verde oscuro – negro
QUINONAS	Borntrager	(-)	No presenta reacción
CUMARINAS	Baljet	(++)	Verde (intenso)
COMPUESTOS GRASOS	Sudan III	(+)	Ligero cambio
CATEQUINAS	Catequinas	(-)	No presenta reacción
RESINAS	Resinas	(++)	-
SAPONINAS	Espuma	(+)	Presencia de espuma
COMPUESTOS FENÓLICOS Y/O TANINOS	Cloruro Férrico	(++)	Azul verdoso
FLAVONOIDES	Shinoda	(++)	Rojo con abundante espuma
ANTOCIANIDINAS	Antocianidinas	(++)	Café oscuro
AZUCARES REDUCTORES	Fehling	(-)	No presenta reacción
MUSCÍLAGOS		(+)	-

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Interpretación de la tabla:

- (-) No presencia del Metabolito (Negativo)
- (+) Baja evidencia
- (++) Evidencia
- (+++) Alta evidencia

Los resultados que observamos en el Cuadro N° 8-3. Nos indican tras el empleo de pruebas o técnicas simples, rápidas y selectivas; la presencia de ciertos metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de nogal (*Juglans regia*), entre ellos los siguientes: Triterpenos, Cumarinas, compuestos grasos, antocianidinas, flavonoides, compuestos fenólicos y/o Taninos, Saponinas, Resinas y mucílagos lo que indica que la especie vegetal tiene flavonoides. En comparación a los estudios realizados por Juro S., y Cols., Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans regia* “nogal” en ratones albinos. Perú 2010, Concuerda con los metabolitos mencionados.

Cuadro N° 9-3. REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN PARA DETERMINAR GRUPOS FITOQUÍMICOS DEL EXTRACTO FLUIDO DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

TIPO DE COMPUESTO/ ENSAYO		RESULTADOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO	
		TOMILLO (<i>Thymus vulgaris</i>)	OBSERVACIONES
ALCALOIDES	Dragendorff	(+)	Opalescencia se intensifica el color
	Wagner	(++)	Presenta precipitado
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Lieberman-Buchard	(++)	Verde oscuro – anaranjado rojizo
QUINONAS	Borntrager	(++)	Rojo (intenso)
CUMARINAS	Baljet	(++)	Anaranjado (intenso)
COMPUESTOS GRASOS	Sudan III	(+++)	Rojo
RESINAS	Resinas	(++)	-
SAPONINAS	Espuma	(++)	Presencia de espuma
COMPUESTOS FENÓLICOS Y/O TANINOS	Cloruro Férrico	(+++)	Azul marino
FLAVONOIDES	Shinoda	(++)	Reacciona con abundante espuma color anaranjado
ANTOCIANIDINAS	Antocianidinas	(+)	Rojo
AZUCARES REDUCTORES	Fehling	(++)	-
MUSCÍLAGOS		(+)	-

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Interpretación de la tabla:

- (-) No presencia del Metabolito (Negativo)
- (+) Baja evidencia
- (++) Evidencia
- (+++) Alta evidencia

En el Cuadro N° 9-3 se puede observar los resultados de los principales grupos Fitoquímicos o metabolitos secundarios investigados en las hojas, tallos y flores previamente secados y molidos del tomillo (*Thymus vulgaris*), determinado en el extracto alcohólico; arrojando los siguientes resultados como positivos:

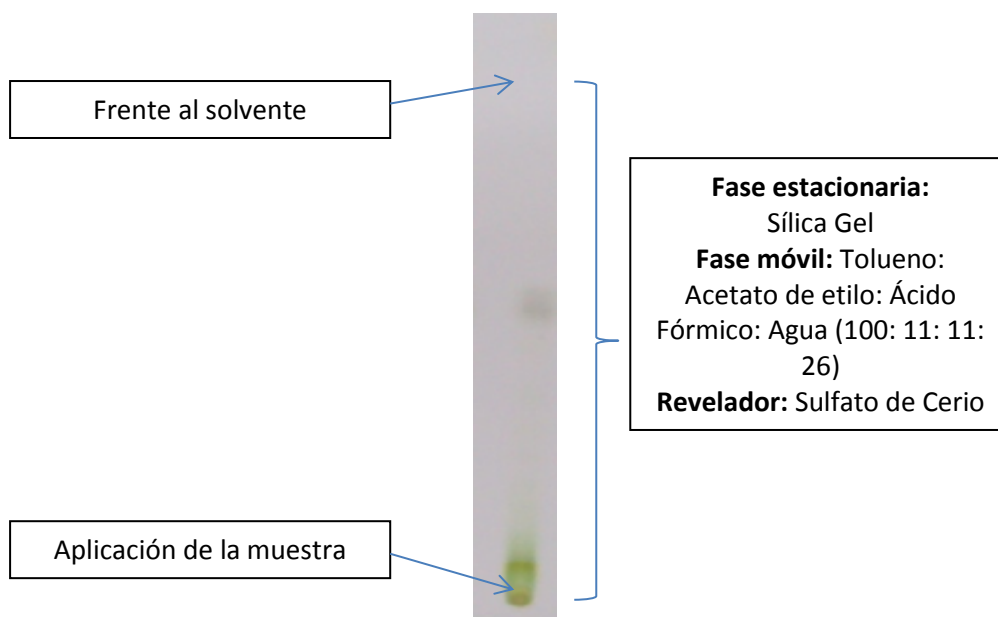
Para alcaloides, triterpenos, quinonas, cumarinas, compuestos grasos, saponinas , compuestos fenólicos y/o Taninos, flavonoides, antocianidinas y mucílagos, resultados que coinciden con los reportados en la literatura según Alonso, J. 2004. (ALONSO, 2004)

3.3 Análisis Cromatográfico**IDENTIFICACIÓN DEL COMPUESTO QUÍMICO REPRESENTATIVO**

La cromatografía se realizó en placas de sílica gel, con sistema de solventes propios para cada determinación.

3.3.1 Análisis Cromatográfico de los flavonoides del guarango (*Caesalpineia spinosa*)

- Adsorbente: Sílica gel 60 F254 (Merck)
- Sistema de solventes (Fase móvil): Tolueno: Acetato de etilo: Ácido Fórmico: Agua (100: 11: 11: 26)
- Revelado: Sulfato de Cerio



Fotografía N° 1-3. Cromatografía en capa fina para para la determinación de flavonoides del extracto fluido de guarango (*Caesalpineia spinosa*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

En la Fotografía N°1-3 se puede evidenciar de forma clara y precisa las zonas coloreadas de amarillo y amarillo verdoso y al comparar los Rf según la revisión bibliográfica los compuestos obtenidos e identificados son:

- Quercetin -3-O-rhamside (quersetine)
- Quercetin -3-O-galactoside (hiperoside)
- Quercetina

Cuadro N° 10-3. Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto fluido de guarango (*Caesalpineia spinosa*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULOS DE Rf	COMPUESTOS IDENTIFICADOS	COLOR
A	0.70	Quercetin -3-O-rhamside	Amarillo verdoso
B	0.73	Quercetin -3-O-galactoside (hiperoside)	Amarillo verdoso
C	0.93	Quercetina	Amarillo

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

El revelado manifestó la presencia de compuestos mediante la siguiente formula y los Rf:

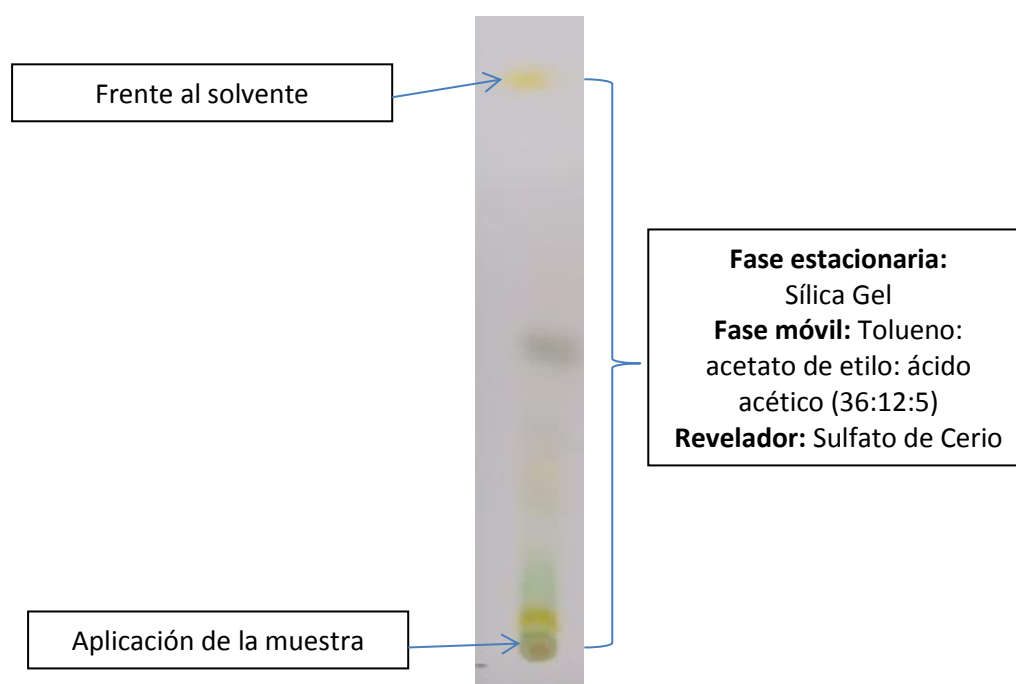
$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

Análisis, interpretación y discusión de resultados

Los resultados obtenidos en el CUADRO N°10-4 nos indica que los compuestos identificados en el guarango (*Caesalpineia spinosa*) por cromatografía en capa fina son la Quercetina ($R_f=0.93$) identificada por el color amarillo, la Quercetin-3-O-rhamside ($R_f=0.70$) y la Quercetin -3-O-galactoside (hiperoside) ($R_f=0.73$), identificados por el color amarillo verdoso, de esta manera se evidencia la presencia de flavonoides en la droga cruda

3.3.2 Análisis Cromatográfico de los flavonoides del nogal (*Juglans regia*)

- Adsorbente: Sílica gel 60 F254 (Merck)
- Sistema de solventes (Fase móvil): Tolueno: Acetato de etilo: Ácido Acético (36:12:15)
- Revelado: Sulfato de Cerio



Fotografía No.2-3. Cromatografía en capa fina para para la determinación de flavonoides del extracto fluido de nogal (*Juglans regia*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

En la Fotografía N°2-3 se puede evidenciar de forma clara y precisa las zonas coloreadas de amarillo y amarillo verdoso y al comparar los R_f según la revisión bibliográfica los compuestos obtenidos e identificados son:

- Quercetina
- Quercetina -3-O-rhamside

Cuadro N° 11-3. Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto fluido de nogal (*Juglans regia*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULOS DE Rf	COMPUESTOS IDENTIFICADOS	COLOR
A	0.70	Quercetin -3-O-rhamside	Amarillo verdoso
B	0.93	Quercetina	Amarillo

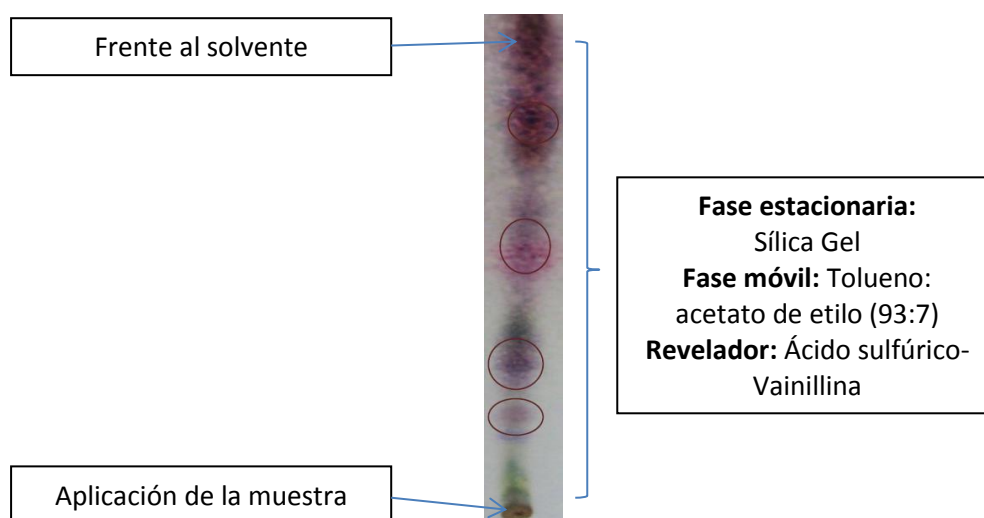
Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

Los resultados obtenidos en el CUADRO N°11-3 nos indica que los compuestos identificados en el nogal (*Juglans regia*) por cromatografía en capa fina son la Quercetina (Rf=0.93) identificada por el color amarillo y la Quercetin-3-O-rhamside (Rf=0.70) identificado por el color amarillo verdoso, de esta manera se evidencia la presencia de flavonoides en la droga cruda

3.3.3 Análisis Cromatográfico del tomillo (*Thymus vulgaris*)

- Adsorbente: Sílica gel 60 F254 (Merck)
- Sistema de solventes: Tolueno: Acetato de etilo (93:7)
- Revelado: Ácido sulfúrico – vainillina.



Fotografía No.3-3. Cromatografía en capa fina del extracto fluido de tomillo (*Thymus vulgaris*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

En la Fotografía N°3-4 se puede evidenciar

- Alcoholes terpénicos (borneol, geraniol y linalol)
- Timol y carvacrol
- ésteres terpénicos (bornyl acetato de linalyl)

Cuadro N° 12-3. Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto fluido de tomillo (*Thymus vulgaris*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULOS DE Rf	COMPUESTOS IDENTIFICADOS	COLOR
A	0.22 0.32 0.34	Alcoholes terpénicos (borneol, geraniol y linalol)	Violeta
B	0.54 0.58	Timol y carvacrol	rosa-violeta
C	0.73 0.78 0.81	ésteres terpénicos (bornyl acetato de linalyl)	Violeta

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

El revelado manifestó la presencia de compuestos mediante la siguiente formula y los Rf:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

Análisis, interpretación y discusión de resultados

Los resultados obtenidos en el CUADRO N°12-3 nos indica que los compuestos identificados en el tomillo (*Thymus vulgaris*) por cromatografía en capa fina son la Alcoholes terpénicos (borneol, geraniol y linalol) (Rf comprendido entre 0.15-0.35) identificada por el color violeta, timol y carvacrol (Rf -0.55) identificado por el color rosa-violeta, ésteres terpénicos (bornyl acetato de linalyl) (Rf comprendido entre 0.7-0.8).

3.4. Cuantificación de flavonoides expresados como Quercetina

Se realizó la cuantificación de flavonoides por espectrofotometría determinando las absorbancias a una longitud de onda de 258nm.

Se realizó una curva de calibración con el estándar de Quercetina con concentraciones de 4, 8, 12, 16 y 20 ppm, posteriormente medir la absorbancia obteniendo las siguientes lecturas y obteniendo la siguiente ecuación.

Concentración ppm	Absorbancia
4	0.233
8	0.448
12	0.675
16	0.953
20	1.153

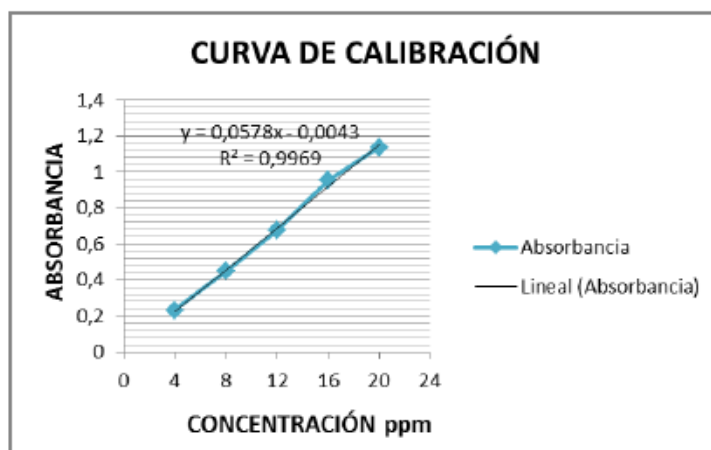


Gráfico No. 1-3. CURVA DE ABSORBANCIA VS CONCENTRACION DE QUERCETINA PARA CUANTIFICACION DE FLAVONOIDES. LABORATORIO DE ANALISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS.ESPOCH.2015
Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Cuadro N° 13-3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES (EXPRESADOS COMO % DE QUERCETINA) DE GUARANGO (*Caesalpineia spinosa*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS-ESPOCH. ENERO. 2015

MUESTRA	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN ppm	CONTENIDO DE FLAVONOIDES %
Guarango (<i>Caesalpineia spinosa</i>)	0.413	7.2	2.3

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

En el caso de la cuantificación de flavonoides, se reemplazó los valores de las absorbancias obtenidas en la ecuación de la curva de calibración de la Quercetina en el GRÁFICO No. 1-3, así se obtuvo un valor de 7.2 ppm. Lo cual concuerda con el valor encontrado en bibliografía, para el guarango (3%).

De acuerdo a los resultados expresados en el CUADRO N° 13-3 nos indica que existe un contenido considerable de flavonoides por lo que garantiza una acción cicatrizante.

3.4. Control de Calidad del producto terminado

3.4.1 Propiedades Físicas

Cuadro N° 14-3. RESULTADO DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS	RESULTADOS		
	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Color	Verde oscuro, ligera tonalidad amarilla	Verde claro con ligera tonalidad café	Verde amarillento-café (oliva)
Olor	Herbal	Herbal	Herbal
Presencia de grumos	Negativo	Negativo	Negativo
Untuosidad al tacto	Hidrofílica (Penetrante)	Hidrofílica (Penetrante)	Hidrofílica (Penetrante)
Peso	100 g	100 g	100g

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

En el cuadro N°14-3 se pueden observar los distintos parámetros organolépticos para determinar la calidad de nuestro producto terminado en sus tres formulaciones distintas: Formulación 1 (Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%), Formulación 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%) y Formulación 3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%). Dichos parámetros a través de los distintos sentidos nos ayudarán a determinar la aceptabilidad del producto. En el caso de las tres distintas formulaciones estas se asemejan únicamente diferenciándose en la tonalidad de sus colores, pero predominando el color verde con ligera tonalidad amarilla por el color de los distintos extractos que en el caso del guarango era de color amarillo, el nogal café amarillento y en el tomillo el color verde. Su aroma es de olor agradable gracias a la utilización adicional de esencia herbal, no existe la presencia de grumos y la untuosidad al tacto es penetrante en las tres distintas formulaciones.

3.4.2 Determinación del pH

Cuadro N° 15-3. DETERMINACIÓN DEL pH DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

Ph	RESULTADOS			
	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3	LÍMITES
	6.67	6.03	6.23	4-7

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

pH: El pH nos expresa la concentración de iones hidronio $[H_3O^+]$ presentes en determinadas sustancias. Los datos obtenidos en las tres distintas formulaciones Formulación 1 (Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%), Formulación 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%) y Formulación 3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%), son un indicativo de que estos valores tienden más hacia la acidez y se encuentran dentro los límites establecidos por la USP #28, lo cual es favorable ya que el pH de la piel es de 5.5 y al aplicar un producto con un pH menor o mayor podría causarnos irritación o quemadura, garantizándonos menor irritación en la piel y una mayor compatibilidad del producto elaborado con el pH de la piel, favoreciendo de esta manera también a la estabilidad de los flavonoides.

3.4.3 Determinación de la extensibilidad

Cuadro N° 16-3. DETERMINACIÓN DE LA EXTENSIBILIDAD DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

EXTENSIBILIDAD	RESULTADOS			
	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3	LÍMITES
	3.95 cm	4.05 cm	3.90 cm	Máximo 5 cm

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

En el cuadro N° 16-3 se puede evidenciar que la extensibilidad de las tres distintas formulaciones: Formulación 1 (Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%), Formulación 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%) y Formulación 3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%), se encuentran dentro de los límites establecidos por la USP #28 de máximo 5

cm, siendo estos valores un indicativo de que la extensibilidad de nuestros productos tienen una alta capacidad para ser aplicados y poder ser distribuidos uniformemente sobre la piel.

3.4.4 Determinación de la viscosidad

CUADRO N° 17-3. DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

VISCOSIDAD	RESULTADOS			
	FORMULACIÓN	FORMULACIÓN	FORMULACIÓN	LÍMITES
	1	2	3	
	54 690 cp	54 630 cp	54 640 cp	No hay especificación

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Análisis, interpretación y discusión de resultados

El cuadro N°17-3 nos muestra los valores obtenidos en el viscosímetro y que al relacionarlo y compararlo con el valor de la viscosidad del Carbopol 940 que se encuentra entre 40 000 y 60 000 centipoises según la USP 28, los valores obtenidos para las tres distintas formulaciones se pueden decir que poseen una viscosidad media.

3.4.2. Análisis Microbiológico

Cuadro N° 18-3. DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL GEL CON ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) Y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACEÚTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. DICIEMBRE DEL 2014.

FORMULACIONES	ENSAYO	VALOR ENCONTRADO	VALOR DE REFERENCIA	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
FORMULACIÓN 1	Aerobios Mesófilos	100 UFC/g	10 000 UFC/g	Aceptable
	Mohos y Levaduras	Ausencia	< 10 UFC/g	Aceptable
	Coliformes totales	Ausencia	0-100 NMP/g	Aceptable
FORMULACIÓN 2	Aerobios Mesófilos	100 UFC/g	10 000 UFC/g	Aceptable
	Mohos y Levaduras	Ausencia	< 10 UFC/g	Aceptable
	Coliformes totales	Ausencia	0-100 NMP/g	Aceptable
FORMULACIÓN 3	Aerobios Mesófilos	100 UFC/g	10 000 UFC/g	Aceptable
	Mohos y Levaduras	Ausencia	< 10 UFC/g	Aceptable
	Coliformes totales	Ausencia	0-100 NMP/g	Aceptable

*Concentración máxima para vegetal medicinal que ha sido tratado previamente o que son de uso tópico. OMS Guía para la evaluación de la calidad de los vegetales medicinales en lo referente a contaminantes y residuos. OMS 2007.

UFC: Unidades formadoras de Colonias

NMP: Número más probable

Los resultados obtenidos en el CUADRO N° 18-3 son un indicativo de que el Análisis Microbiológico del gel muestra resultados favorables y se encuentran dentro del criterio aceptable, mostrándonos de que el producto se encuentra en óptimas condiciones para su uso y la adecuada elaboración es decir con inocuidad y asepsia. Los resultados que observamos en las tres distintas formulaciones (Formulación 1 (Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%), Formulación 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%) y Formulación 3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%)) son ausencia total tanto de Mohos y Levaduras como de coliformes totales, solo se encuentra una pequeña cantidad de Aerobios Mesófilos de 100 UFC/g, valor que se encuentra dentro del criterio aceptable, es decir dentro de los límites establecidos por la OMS 2007, para productos no estériles.

3.5 Actividad Cicatrizante del gel a base de los extractos alcohólicos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*).

3.5.1 Proceso de Cicatrización

Cuadro No. 19-3. RESULTADOS DE LA MEDIDA DIARIA EN cm DE LA HERIDA HASTA EL DESPRENDIMIENTO DE LA COSTRA. ESPOCH. REALIZADO EN EL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ENERO DEL 2015.

PROCESO DE CICATRIZACIÓN					
MEDIDAS DE LA HERIDA EN cm					
DIAS	TRATAMIENTOS				
	CONTROL (-) SIN TRATAMIENTO	CONTROL (+) LAMODERM	FORMULACIÓN 1	FORMULACIÓN 2	FORMULACIÓN 3
1	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
2	2.0	2.0	1.9	1.8	1.7
3	1.9	1.6	1.9	1.6	1.3
4	1.7	1.4	1.7	1.1	0.9
5	1.5	1.1	1.6	0.8	0.5
6	1.3	0.8	1.4	0.4	0.1
7	0.9	0.5	1.1	0.2	0.0
8	0.7	0.4	0.7	0.0	
9	0.4	0.1	0.4		
10	0.1	0.0	0.1		
11	0.1		0.0		
12	0.0				

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

El Cuadro N° 19-3 nos indica los resultados obtenidos diariamente de los distintos grupos de investigación, mostrándonos una apreciación general del cierre de la herida hasta el desprendimiento de la costra.

Al realizar la medición diaria de la herida en nuestros grupos de investigación a los que se les aplicó un diferente tratamiento desde la realización de la herida hasta el desprendimiento de la costra con la regeneración del epitelio de la piel los resultados que se pudieron obtener:

- Control (-) Sin tratamiento: 12 días
- Control (+) Lamoderm: 10 días
- Formulación 1 (Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%): 11 días
- Formulación 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%): 8 días
- Formulación 3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%): 7 días

Los resultados que observamos son un indicativo de que las formulaciones F2 y F3 resultan ser más eficaces y eficientes frente a los distintos grupos de investigación, debido a que estas dos formulaciones presentan un menor lapso de tiempo en el cese de la herida y asemejándose en el periodo de tiempo que es de 7 y 8 días respectivamente, gracias a la presencia de taninos, flavonoides y musílagos que son los metabolitos que al combinarse se observa que presentan sinergia y en concentraciones adecuadas muestran un mejor resultado y en menor tiempo.

La formulación 1 en conjunto con el grupo Control (+) “LAMODERM” con efecto (antibacteriano, antiinflamatorio y cicatrizante), poseen un efecto similar tal y como lo indica la TABLA 17-3 en el que ambos grupos de investigación poseen periodos de tiempo de cicatrización similar de 10 y 11 días respectivamente, siendo un indicativo de que en ambos grupos se actuó de manera indirecta en el proceso de cicatrización como antisépticos mas no como agentes cicatrizantes.

En el control negativo al no aplicarse ningún tipo de tratamiento que acelere la reepitalización de los tejidos, la cicatrización de la herida en este grupo de investigación es mayor tardando un total de 12 días.

PRODUCCIÓN Y DESPRENDIMIENTO DE COSTRA

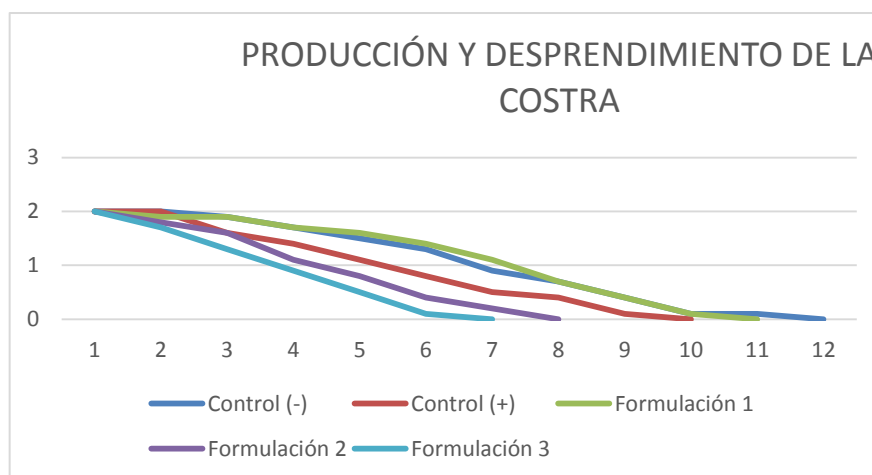


Gráfico N° 2-3. TAMAÑO DE LA HERIDA Y DESPRENDIMIENTO DE LA COSTRA EN cm CON RESPECTO A LOS DÍAS QUE TARDA EN DESPRENDER LA COSTRA. ESPOCH. MARZO 2015.

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

La producción y desprendimiento de costra que se da con la aplicación de cada tratamiento se muestra GRÁFICO No. 2, indican una vez más que la Formulación 3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%), no solamente es la más eficaz para cicatrizar heridas en menor tiempo por la sinergia de sus compuestos químicos, sino que también acortan el tiempo de caída de la costra

regenerando de inmediato una nueva capa de piel, en este caso la formación completa de la costra y su desprendimiento se dio a los 7 días como se observa en la línea verde.

Cuadro N° 20-3. ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL GEL EN RATONES EVALUADO MEDIANTE LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN DE CADA UNO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. REALIZADO EN EL BIOTERIO. ESPOCH. ENERO 2015.

DÍAS DE CICATRIZACIÓN				
TRATAMIENTOS	GRUPOS			
	G1	G2	G3	Media
A	12	13	12	12
B	10	10	10	10
C	11	10	11	11
D	7	8	8	8
E	7	7	6	7

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

- **G**= Grupos
- **A**= Ratones heridos sin tratamiento
- **B**= Ratones heridos tratados con Lamoderm
- **C**= Ratones heridos tratados con gel (formulación # 1)
- **D**= Ratones heridos tratados con gel (formulación # 2)
- **E**= Ratones heridos tratados con gel (formulación # 3)

En el cuadro N° 20-3 se puede observar que de acuerdo a los resultados expresados, el grupo en el que se cicatrizó en la menor cantidad de tiempo es el grupo E, indicándonos mayor eficiencia la F3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%) en una concentración al 30% que tardó un total de 7 días de la cicatrización de la herida, asemejándose mucho al grupo D que tardó 8 días en cicatrizar la herida, F 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%).

Cuadro N° 21-3. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN DE CADA TRATAMIENTO CON RESPECTO A LA AUSENCIA DE TRATAMIENTO. ESPOCH. ENERO 2015.

TRATAMIENTO	DÍAS DE CICATRIZACIÓN	PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN (%)
BLANCO (CONTROL NEGATIVO)	12	100%
CONTROL (+) LAMODERM	10	83.33%
FORMULACIÓN 1	11	91.66%
FORMULACIÓN 2	8	66.66%
FORMULACIÓN 3	7	58.33%

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

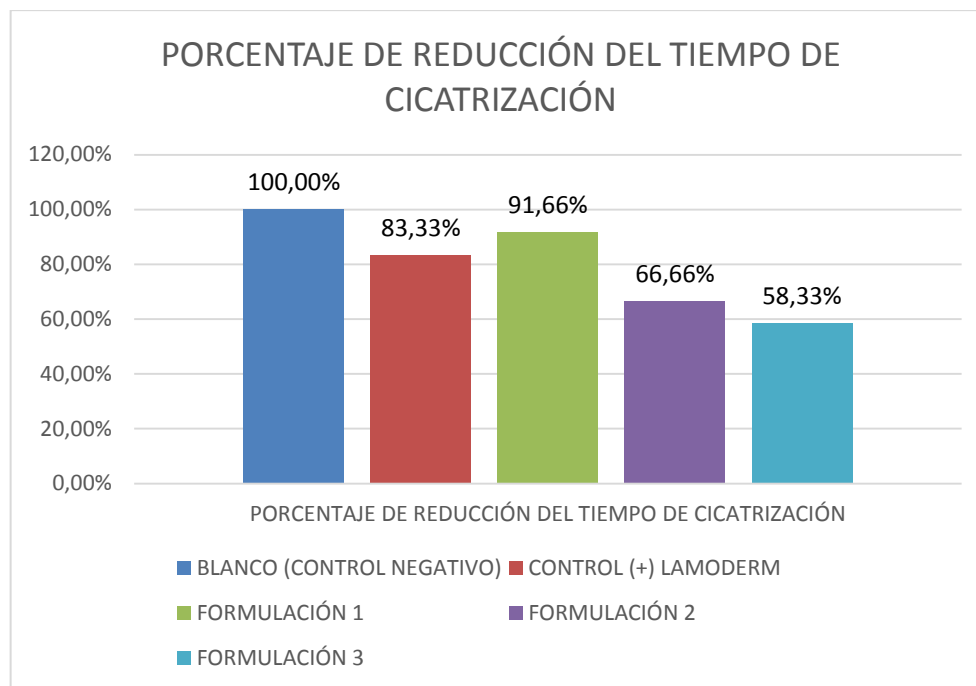


Gráfico N° 3-3. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN. ESPOCH. MARZO 2015.

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

De acuerdo al CUADRO N° 21-3 nos indica que al tomar los resultados del grupo blanco como referencia, a los 12 días de cicatrización en este grupo experimental se expresan como el 100% , observándose que al tratar la herida con Lamoderm el tiempo de cicatrización se reduce a un 83.33% , al aplicar el gel formulación # 1 el tiempo de cicatrización se reduce a un 91.66%, mientras que aplicando el gel formulación # 2 su reducción del porcentaje de tiempo de cicatrización con respecto al blanco es del 66.66%, de manera semejante sucede al aplicar el gel formulación # 3 con una reducción del porcentaje del tiempo de cicatrización con respecto el blanco muy notoria siendo del 58.33% mucho menos que todos los tratamientos anteriores.

3.6 Análisis Estadístico

DESCRIPTIVOS

Cuadro No. 22-3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO, APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO EN RATONES (*Mus musculus*). ESPOCH. Marzo 2015.

DIAS DE CICATRIZACIÓN								
Tipo de tratamiento	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Min	Max
					Límite inferior	Límite superior		
SIN TRATAMIENTO	3	11.67	.577	.333	10.23	13.10	11	12
LAMODERM	3	9.67	.577	.333	8.23	11.10	9	10
FORMULACIÓN 1	3	10.33	.577	.333	8.90	11.77	10	11
FORMULACIÓN 2	3	7.33	.577	.333	5.90	8.77	7	8
FORMULACIÓN 3	3	6.33	.577	.333	4.90	7.77	6	7
TOTAL	15	9.066	2.314	.597	7.632	10.520	6	12

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

En el CUADRO N° 22-3 se realizó un análisis estadístico general descriptivo para los 5 grupos de las aplicaciones de los diferentes tratamientos con respecto a los días de cicatrización, según los resultados obtenidos analizando las medias se observa que la menor media nos da el tratamiento F3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%), con un promedio de 7 días presentando una rápida cicatrización de la herida en los ratones con respecto a otros tratamientos.

La desviación típica de un conjunto de datos es una medida de cuánto se desvían o alejan los datos de su media. Los valores de desviación típica (0,557) son iguales para los diferentes tratamientos, este valor es mucho menor porque sus valores son cercanos en cada grupo, esto nos da la precisión indicándonos en el CUADRO N° 22-3

ANOVA A UN FACTOR

Cuadro N° 23-3. ANÁLISIS DE ANOVA DE UN FACTOR REALIZADO A LOS RESULTADOS DE LAS APLICACIONES DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. ESPOCH. Marzo 2015

DÍAS DE CICATRIZACIÓN						
	Suma de Cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Valor crítico	p-valor
Inter-grupos	71.600	4	17.900	53.700	3.478	.000
Intra-grupos	3.333	10	.333			
Total	74.933	14				

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Descripción del problema

Variable respuesta: Días de cicatrización (en cm).

Factor de interés: Actividad de los cicatrizantes.

Unidades experimentales: Ratones.

Modelo: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$

μ : es la media global, asociada con un parámetro desconocido

α_i : efecto debido a la actividad de los cicatrizantes utilizados

e_{ij} : error asociado a la observación Y_{ij}

Planteamiento de hipótesis.

- ***Ho (hipótesis nula)*** No existe diferencia significativa en la actividad cicatrizante entre las formulaciones, el control y el medicamento de referencia aplicado.
- ***H1 (hipótesis alterna)*** Al menos dos formulaciones aplicadas tienen diferente efecto cicatrizante.

Interpretación: En el CUADRO N° 23-3 en el análisis de *Anova de un factor* nos indica que el valor del estadístico de prueba F (53,700) es mayor que el valor crítico, por lo tanto se procede a rechazar la Hipótesis nula, es decir que efectivamente aceptamos que hay diferencia estadísticamente significativa en los días de cicatrización, entre el medicamento de referencia y el grupo control.

Decisión: Ya que el P-valor (0,000) es menor que el nivel

Decisión: Ya que el P-valor (0,000) es menor que el nivel de significancia (0,05) se procede a rechazar la hipótesis nula (H_0), e indicándonos que al menos dos formulaciones aplicadas tienen diferente efecto cicatrizante.

SUBCONJUNTOS HOMOGENEOS

Cuadro No. 24-3. ANÁLISIS SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS REALIZADOS A LOS DATOS DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

DÍAS DE CICATRIZACIÓN				
HSD DE TUCKEY				
TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa: 0.05		
		1	2	3
FORMULACIÓN 3	3	6.33		
FORMULACIÓN 2	3	7.33		
LAMODERM	3		9.67	
FORMULACIÓN 1	3		10.33	
SIN TRATAMIENTO	3			11.67
SIG.		.283	.950	1.00
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.				

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

Aplicamos la prueba de Tukey para ver cuál es el grupo con similar actividad cicatrizante. En el CUADRO No. 24-3. Según los resultados obtenidos podemos expresar que los tratamientos que dieron mejores resultados en la rápida cicatrización de la herida en los ratones en su grupo experimental fueron las F3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%) y F 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%), son significativamente iguales, por lo tanto los dos tratamientos tienen un efecto similar.

Mientras que la Formulación 1 (Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%) con el medicamento de referencia Lamoderm poseen una homogeneidad entre dichos tratamientos.

El Grupo experimental Control negativo que no se trató con ningún tipo de medicamento difiere de los demás tratamientos, es decir no posee homogeneidad con otros tratamientos, es decir es diferente a todos los tratamientos.

La prueba de Tukey agrupa los tratamientos estadísticamente homogéneos con grado de significancia logrando establecer que el efecto cicatrizante de F2 y F3 tiene la misma eficacia como cicatrizantes.

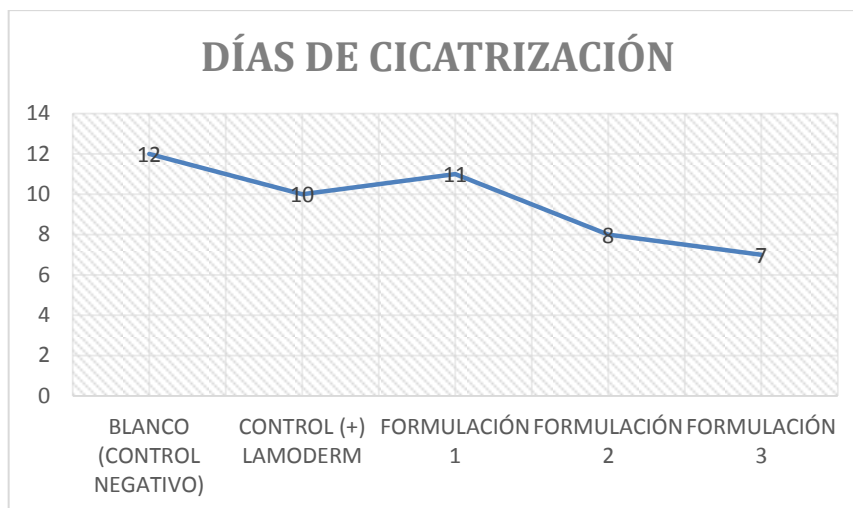


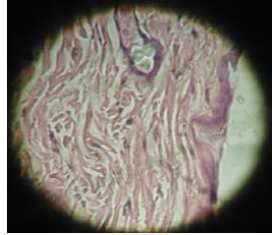
Gráfico No. 4-3 DÍAS DE CICATRIZACIÓN CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS APLICADOS. ESPOCH. MARZO 2015.

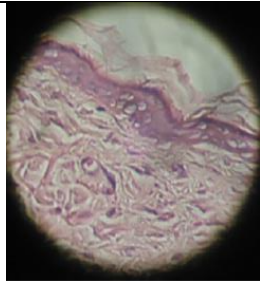
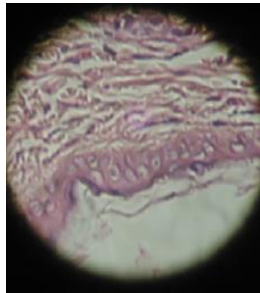
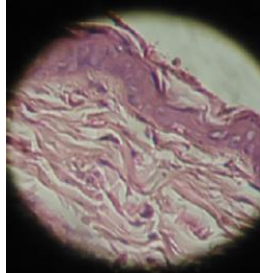
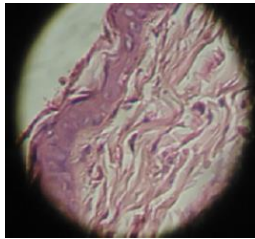
Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

En este GRÁFICO No. 4-3. Se representa una línea, la cual en el eje de las abscisas se encuentra los diferentes tipos de tratamientos aplicados a los ratones y en el eje de las ordenadas el tiempo en días que tardó en cicatrizar la herida, observando que el tratamiento con mejor efecto es la F3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%) que tardó 7 días en cicatrizar completamente la herida.

3.7 Examen histopatológico a ratones (*Mus musculus*)”

Cuadro No. 25-3. EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE LA PIEL DE RATONES (*Mus musculus*) CON HERIDAS INDUCIDAS, PARA LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO CON LA MEZCLA DE LOS EXTRACTOS DE GUARANGO (*Cesalpineia spinosa*), NOGAL (*Juglans regia*) y TOMILLO (*Thymus vulgaris*). FEBRERO 2015.

MUESTRA	EXAMEN MICROSCÓPICO	EXAMEN MICROSCÓPICO	OBSERVADAS A 40X
A (Control Negativo)	Largo: 2.5 cm Ancho: 1 cm Profundidad: 0.1 mm Cicatriz: 2 cm Peso de la piel cortada: 0.232 g Color: Blanco pálido	Presencia de epitelio escamoso, con tejido fibroso de cicatrización un 100%, con características normales	
B (Control Positivo)	Largo: 2.5 cm Ancho: 1 cm Profundidad: 0.1 mm	Presencia de epitelio escamoso, fibroblastos y fibras	

	<p>Cicatriz: 2 cm</p> <p>Peso de la piel cortada: 0.236 g</p> <p>Color: Blanco pálido</p>	<p>de colágeno, las células basales de la epidermis proporcionan una solución de continuidad con tejido conectivo denso; con tejido fibroso cicatricial un 80%</p>	
C Formulación 1	<p>Largo: 2.5 cm</p> <p>Ancho: 1 cm</p> <p>Profundidad: 0.1 mm</p> <p>Cicatriz: 2 cm</p> <p>Peso de la piel cortada: 0.258 g</p> <p>Color: Blanco pálido</p>	<p>Presencia de epitelio escamoso, fibroblastos y fibras de colágeno, las células basales de la epidermis proporcionan una solución de continuidad con tejido conectivo denso; con tejido fibroso cicatricial un 80%</p>	
D Formulación 2	<p>Largo: 2.5 cm</p> <p>Ancho: 1 cm</p> <p>Profundidad: 0.1 mm</p> <p>Cicatriz: 2 cm</p> <p>Peso de la piel cortada: 0.256 g</p> <p>Color: Blanco pálido</p>	<p>Presencia de epitelio escamoso, fibroblastos y fibras de colágeno, las células basales de la epidermis proporcionan una solución de continuidad con tejido conectivo denso; con tejido fibroso cicatricial un 100%</p>	
E Formulación 3	<p>Largo: 2.5 cm</p> <p>Ancho: 1 cm</p> <p>Profundidad: 0.1 mm</p> <p>Cicatriz: 2 cm</p> <p>Peso de la piel cortada: 0.222 g</p> <p>Color: Blanco pálido</p>	<p>Presencia de epitelio escamoso, fibroblastos y fibras de colágeno, las células basales de la epidermis proporcionan una solución de continuidad con tejido conectivo denso; con tejido fibroso cicatricial un 100%</p>	

Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

En el CUADRO No. 25-3 se observa que el blanco presenta una piel con integridad del epitelio, glándulas y folículos pilosos de distribución normal, el control negativo presentó un 100% de cicatrización, el control positivo con medicamento de referencia en este caso Lamoderm presentó una cicatrización de 80% igual a la F1, el gel al 30% F2 y F3, presentó un 80% de cicatrización.

La cicatrización de las heridas por los geles al 30%, formulación 2 y 3 tuvo mayor efecto porque se observó la presencia de epitelio escamoso, abundantes fibroblastos y fibras de colágeno, las células basales de la epidermis proporcionan una solución de continuidad, tejido conectivo denso, con tejido fibroso cicatricial en un 100% de regeneración celular, por el cual la herida se une fuertemente es decir tiene mayor fuerza de tensión (aumento de las fibras de colágeno), al comparar con los otros grupos de control.

Por lo tanto la aplicación de la forma farmacéutica influye favorablemente sobre el cierre de las heridas, favoreciendo la cicatrización, no presentan efectos adversos a nivel cutáneo.

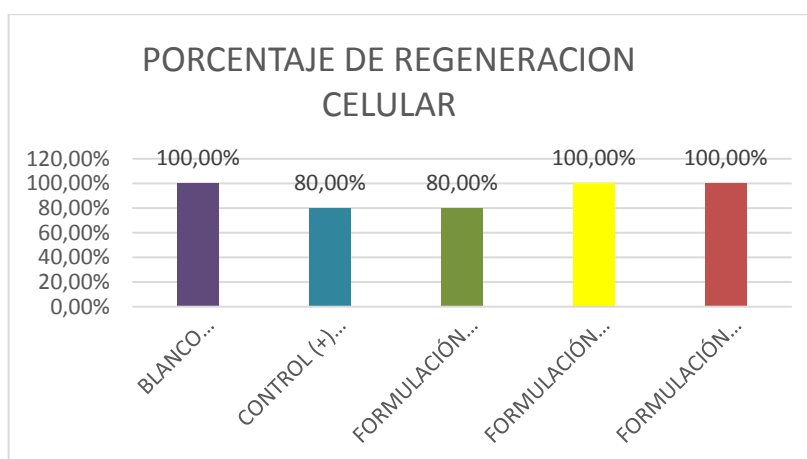


Gráfico N° 5-3. Porcentaje de regeneración celular
Realizado por: CHARCO, Jhony.2015

En el GRÁFICO N° 5-3. El blanco presenta un porcentaje de 100% es decir es una piel sana sin herida, todos sus capas están completamente distribuidas, en el control negativo la regeneración de tejidos es menor con respecto a otros tratamientos, esto se debe a que no se aplicó ninguna sustancia regeneradora, este control realiza un proceso de cicatrización normal donde al aumentar la densidad de colágeno disminuye la formación de vasos sanguíneos nuevos por lo que el tejido cicatricial se vuelve pálido, con el medicamento comercial Lamoderm la regeneración es poco fuerte, con las formulaciones 2 y 3 tuvieron resultados similares y mejores con una regeneración fuerte. La piel lesionada no se regenera totalmente después de una lacera, siempre queda marcada por una cicatriz (depósito de tejido conjuntivo fibroso) aunque pequeña, es decir nunca queda igual que una piel original.

CONCLUSIONES

- Se preparó los extractos alcohólicos a partir de las vainas del guarango (*Caesalpinia spinosa*), corteza del nogal (*Juglans regia*) y; hojas, tallos y flores del tomillo (*Thymus vulgaris*), previamente secadas y pulverizadas; y al realizar el tamizaje Fitoquímico se demostró que en estas tres especies vegetales existen la presencia de los metabolitos secundarios como es el caso de compuestos fenólicos y/o taninos, flavonoides y mucilagos, compuestos que son responsables de la actividad cicatrizante, ideal para la formulación de una forma farmacéutica. (Cuadro N° 1-3 a Cuadro N° 9-3)
- Se elaboró tres formulaciones de gel al 30% de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) a distintas concentraciones: Formulación 1 (Guarango 20%, Nogal 5% y Tomillo 5%), Formulación 2 (Guarango 15%, Nogal 10% y Tomillo 5%) y Formulación 3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%). Dichas formulaciones fueron sometidas al control de calidad del producto terminado tanto de los parámetros físico-químicos como microbiológicos, cumpliendo con los requisitos de calidad establecidos por la USP # 28, y OMS 2007, por lo que el gel se encuentra en condiciones aceptables y óptimas para su uso. (Cuadro N° 14-3 a Cuadro N° 18-3)
- Se comprobó que las tres formulaciones de gel elaborado con los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*), presentan actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores acelerando la reepitalización de los tejidos, siendo estas formulaciones comparadas frente a un medicamento de referencia que en este caso fue el “LAMODERM” (Acetato de predisolona 0.5g, Sulfato de neomicina 0.5g), lo que nos ayudó a verificar la eficacia de dichas formas farmacéuticas tal y como puede corroborarse con el estudio histológico. Al realizar el análisis estadístico general descriptivo para los 5 grupos de las aplicaciones de los diferentes tratamientos con respecto a los días de cicatrización, los resultados obtenidos nos indica que la menor media nos da el tratamiento F3 (Guarango 10%, Nogal 10% y Tomillo 10%), con un promedio de 7 días con respecto a otros tratamientos. La prueba de Tukey establece que el efecto cicatrizante de F2 y F3 tiene la misma eficacia como cicatrizantes, debido a que estas dos formulaciones presentan un menor lapso de tiempo en el cese de la herida en un periodo de tiempo que es de 7 y 8 días respectivamente, gracias a la presencia de taninos, flavonoides y mucílagos que son los metabolitos que al combinarse se observa que presentan sinergia y en concentraciones adecuadas muestran un mejor resultado y en menor tiempo. (Cuadro N° 19-3 a Cuadro N° 25-3).

RECOMENDACIONES

- Se debe realizar estudios de estabilidad a largo plazo del gel elaborado a base de los extractos de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*), mediante métodos analíticos que nos ayuden a determinar la estimación del tiempo de vida útil de la forma farmacéutica realizada, con el objetivo de asegurar la completa estabilidad del producto.
- Continuar con el estudio y evaluación de la actividad cicatrizante del gel, probando el efecto cicatrizante de los extractos en forma individual y/o realizar a otras concentraciones mayores o menores al 30% determinando si presentan mejores resultados.
- Se debe realizar un mayor número de investigaciones de estas tres especies vegetales para la incorporación a nuevas formas farmacéuticas que contribuyan al incremento de fitomedicamentos para la economía de nuestro país

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, Jose. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. 2.ed. Buenos Aires-Argentina. Grupo Eclipse. 1998, pp. 228-230.

ARAGADVAY, Sandra. Elaboración y Control de Calidad de Tintura y Gel Cicatrizante y Antiinflamatorio a base de Chilca (*Baccharis latifolia*) y Hierbamora (*Solanum nigrum*). (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2009, pp. 45-49, 54-59, 60-65 - 105 -106.

AVELLO, María. FITOTERAPIA sus Orígenes, Características y Situación en Chile. *Revista Médica Chile*. Vol. Nº 1. Marzo 2010, Chile, pp. 2,3,5-8.

BRUNETON, Jose. Farmacognosia: Fitoquímica Plantas Medicinales., 2ª ed. Zaragoza-España. Acribia. 2001, pp. 336-338.

CAPITAN, Luis. Guía Práctica de Urgencias Quirúrgicas. 3ª ed. Sevilla-España., Índice y Marcapáginas SL. 2000, pp. 256-268.

CARDENAS, Manuel. Manual de Plantas de Bolivia., 2ª ed. Cochabamba- Bolivia. Los Amigos del Libro. 1989, pp. 327.

CARRILLO, Erica. Caesalpineia spinosa. 3.ed. Lima-Perú. Hispana. 2007, pp. 134-137.

CASCALES, Mario. Bioquímica y Fisiología del Sistema inmune. *Revista del Instituto de España*. Vol. Nº4. Julio 2007., pp. 29-60.

CASTILLO, Elisa. Manual de Fitoterapia. Barcelona – España. Elsevier Masson. 2007, pp. 57-63.

COELLO., Rómulo, Elaboración y control de calidad de gel cicatrizante a base de sábila (*Aloe Vera*) y caléndula (*Calendula officinalis*). (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela

Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2012, pp. 67.

CRUZ, Paulina. Elaboración y control de calidad del gel Antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguetia glutinosa*), y Marco (*Ambrosia arborescens*) Para Neo – Fármaco. (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2009, pp. 47-48.

FONNEGRA, Rodrigo. Plantas Medicinales aprobadas en Colombia. *Revista de la Universidad de Antioquía*. Vol. N° 3. Agosto 2008, Colombia. Pp. 161-163.

FORMULARY, Phayton N. Pharmacopeia USP XXVIII NF 18. *Normas de Estándar Internacional*. Vol. N° 28. Julio 1985, España. pp. 263-280.

GENNARO, Andrés. Remington Farmacia. 20a.ed.- Tomo 1. Buenos Aires –Argentina., Médica Panamericana S.A. 2003, pp. 872, 873, 1198.

GÓMEZ., Alfredo. Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos experimentales in vivo e in vitro. Palencia-Guatemala. Ed. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2005, pp. 65-79, 101-103, 116-125, 422-433.

GUEVARA, Tatiana. Elaboración y determinación de eficacia in vivo de un gel para el acné a base de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*). (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2010, pp. 6-10, 57-68 – 106.

GUILLERMO, Ruth. Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. (Tesis) (Químico Farmacéutico). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima-Perú. 2002, pp 13-20.

JANEWAY, Charles. et al. Inmunología: El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad. 2. ed. Madrid - España. Masson. 2003, pp. 1233-1256.

LOCK, Oswald. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima – Perú. Ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994, pp. 22-28, 72-80, 114-117.

MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO. Real Farmacopea Española. 2a ed., Madrid - España. Imprenta Nacional del Boletín Oficial del Estado. 2002, pp. 454-455, 548, 549, 553, 1735, 2263-2265; 2443-2445.

MUÑOZ, Francis. Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio Cultivo y Proceso. Madrid-España. Grupo Mundi-Prensa. 1996, pp. 15-18, 281-288, 311-318

OROZCO, Mayra. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO A BASE DE LOS EXTRACTOS DE MOLLE (*Schinus molle*), COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense L.*), LINAZA (*Linum usitatissimum L.*) EN RATONES (*Mus musculus*). (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013, pp-46-70.

QUIROZ, Ruth. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO A BASE DE LOS EXTRACTOS DE NOGAL (*Juglans neotropica Diels*), ORTIGA (*Urtica dioica L.*), SÁBILA (*Aloe vera*), EN RATONES (*Mus musculus*). (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013, pp. 30-42.

QUISI, Rosa. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO A BASE DE LOS EXTRACTOS DE MOLLE (*Schinus molle*), COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense L.*), LINAZA (*Linum usitatissimum L.*) EN RATONES (*Mus musculus*). (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2012, pp. 26-32.

REDROBÁN, Karina. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Berro (*nasturtium officinale*) y Llantén (*plantago major*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2012, Pp. 48-49

SAMANIEGO, A., Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante de Calendula (*Calendula officinalis*) para NEO-FARMACO. (Tesis) (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2007, pp. 69-75.

TORTORA, Grabowski. Principios de Anatomía y Fisiología. 2.ed. Madrid-España. Harcourt Bruce. 1998, pp. 163-184.

ANEXOS

ANEXO A. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL

Método Físico-Químico de Análisis



ANEXO B. PARÁMETROS DE CALIDAD QUÍMICO-CUALITATIVO

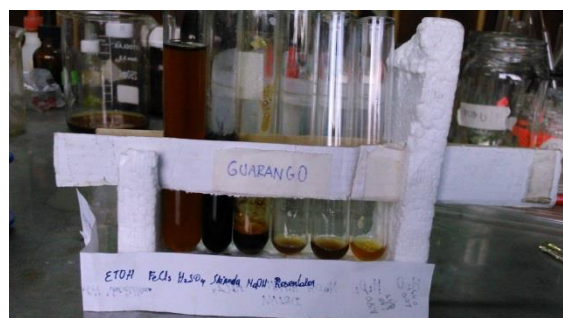
Extracción del material para la aplicación de técnicas de tamizaje Fitoquímico (Maceración)



Obtención de los extractos



Tamizaje Fitoquímico



ANEXO C. PREPARACION DEL GEL



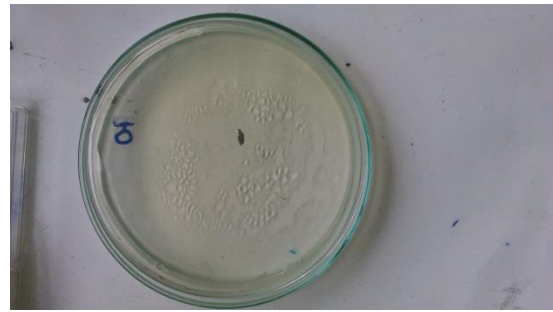
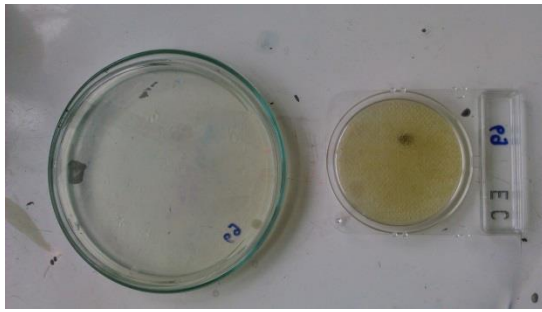
Control de Calidad del Producto Terminado





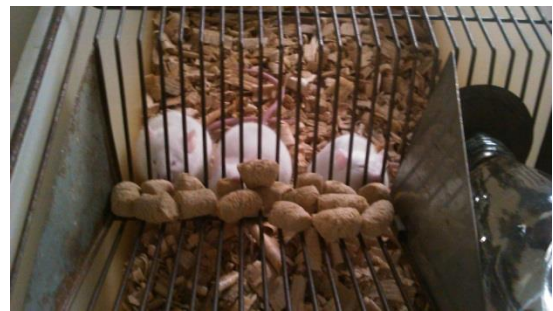
Análisis Microbiológico





ANEXO C. Ensayo de la actividad cicatrizante

Aclimatación, ambientación o acondicionamiento



Depilación



Inducción de la herida

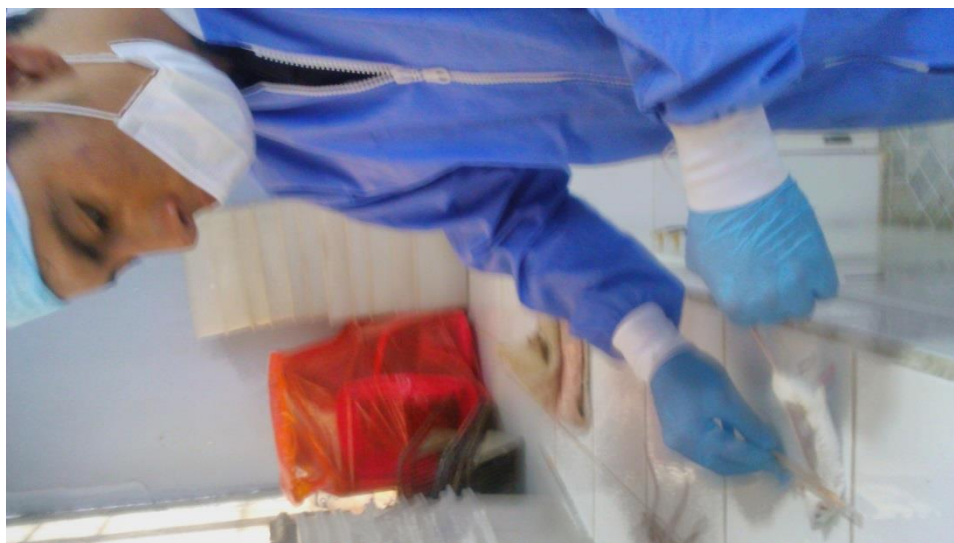




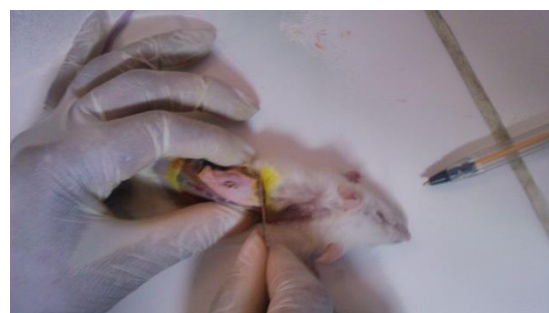
Administración del tratamiento

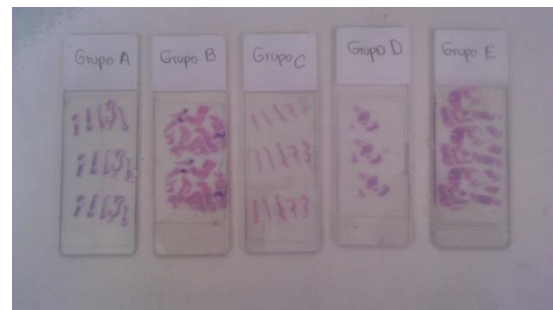


Eutanasia de los animales de experimentación

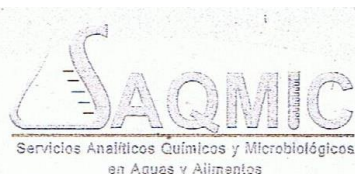


Examen histológico





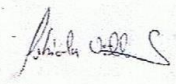


ANEXO D. Resultados del análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio SAQMIC “Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos en Aguas y Alimentos”. Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes, Contactos: 0998580374- 032942322. Riobamba-Ecuador.



EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE FARMACO

CÓDIGO 69-15

CLIENTE: Sr. Jhony Charco		
DIRECCIÓN: ESPOCH		TELÉFONO:
TIPO DE MUESTRA: Gel cicatrizante de guarango, nogal y tonillo "Formulación 2"		
FECHA DE RECEPCIÓN: 18 de enero de 2015		
FECHA DE MUESTREO: 18 de enero de 2015		
EXAMEN FISICO		
COLOR: Verde		
OLOR: Característico		
ASPECTO: Homogéneo, libre de material extraño		
PARÁMETROS	MÉTODO	RESULTADO
Coliformes totales UCF/g	Siembra vertido en placa	Ausencia
Aerobios mesófilos UFC/g	Siembra vertido en placa	10
Mohos y levaduras UFC/g	Siembra en extensión	Ausencia
OBSERVACIONES:		
FECHA DE ANÁLISIS: 18 de enero del 2015		
FECHA DE ENTREGA: 23 de enero del 2015		
RESPONSABLES:		
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  Dra. Gina Álvarez R. </div> <div style="text-align: center;">  Dra. Fabiola Villa </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div>		

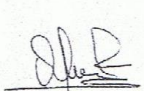

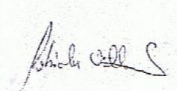
El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

*Las muestras son receptados en laboratorio.

Formulación 2

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE FARMACO

CÓDIGO 70-15

CLIENTE: Sr. Jhony Charco		
DIRECCIÓN: ESPOCH		TELÉFONO:
TIPO DE MUESTRA: Gel cicatrizante de guarango, nogal y tonillo "Formulación 3"		
FECHA DE RECEPCIÓN: 18 de enero de 2015		
FECHA DE MUESTREO: 18 de enero de 2015		
EXAMEN FISICO		
COLOR: Verde		
OLOR: Característico		
ASPECTO: Homogéneo, libre de material extraño		
PARÁMETROS	MÉTODO	RESULTADO
Coliformes totales UCF/g	Siembra vertido en placa	Ausencia
Aerobios mesófilos UFC/g	Siembra vertido en placa	Ausencia
Mohos y levaduras UFC/g	Siembra en extensión	Ausencia
OBSERVACIONES:		
FECHA DE ANÁLISIS: 18 de enero del 2015		
FECHA DE ENTREGA: 23 de enero del 2015		
RESPONSABLES:		
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  Dra. Gina Álvarez R. </div> <div style="text-align: center;">  <small>Servicio Analítico Químico y Microbiológico</small> </div> <div style="text-align: center;">  Dra. Fabiola Villa </div> </div>		
<p>El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.</p> <p>*Las muestras son receptados en laboratorio.</p>		